FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1967

THÈSE

N° 821

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

François FREYMUTH

Externe C.H.U. de Caen

Né le 22 novembre 1941, à Angervilliers (Seine-et-Oise)

Présentée et soutenue publiquement le 196

Contribution à l'étude de la promotion hospitalière de "Pseudomonas aéruginosa"

Président : M. FASQUELLE, Professeur

IMPRIMERIE
R. FOULON & Cie
29, Rue Deparcieux, 29
PARIS — 1967

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1967

THÈSE

N°

POUR

LE DOCTORAT EN MÉDECINE

(DIPLOME D'ÉTAT)

PAR

François FREYMUTH

Externe C.H.U. de Caen

Né le 22 novembre 1941, à Angervilliers (Seine-et-Oise)

Présentée et soutenue publiquement le 196

Contribution à l'étude de la promotion hospitalière de "Pseudomonas aéruginosa"

Président : M. FASQUELLE, Professeur

IMPRIMERIE
R. FOULON & Cie
29, Rue Deparcieux, 29
PARIS — 1967

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. Alajouanine (T.), Bénard (H.), Bernard (E.), Binet (L.), Bulliard (H.), Cathala (J.), Chabrol (E.), Chailley-Bert (P.), Cheymol (J.), Debré (R.), Fey (B.), Galliard (H.), Gaudart d'Allaines (F. de), Gennes (L. de), Giroud (A.), Hazard (R.), Heuyer (G.), Laroche (G.), Lavier (G.), Lelong (M.), Lévy (Mlle J.), Lévy-Solal (E.), Lian (C.), Marchal (G.), Mathieu (P.), Monod (R.), Moreau (R.), Moulonguet (P.), Pasteur Vallery-Radot, Petit-Dutaillis (D.), Piédelièvre (R.), Quénu (J.), Renard (G.), Senèque (J.), Strohl (A.), Tanon (L.), Verne (J.)

Doyen : Georges BROUET

1er assesseur : Daniel BARGETON — 2e assesseur : Jean GOSSET

I. — PROFESSEURS

1° CHAIRES DE SCIENCES FONDAMENTALES

a) Professeurs titulaires :

	MM.
Anatomie	Delmas (A.)
—	Huard (P.)
Anatomie et cytologie path.	Delarue (J.)
Anesthésiologie	Vourc'h (G.)
Bactériologie et virologie	Tournier (P.)
Biochimie médicale	Jayle (M.-F.)
—	Polonovski (J.)
—	Desgrez (P.)
Biologie appl. à l'Education physique et aux Sports	Malmejac (J.)
Biologie médicale	Fauvert (R.)
Biophysique médicale	Bugnard (L.)
—	Dognon (A.)
—	Djourno (A.)
Cancérologie expérimentale	Mathé (G.)
Chimie pathologique	Schapira (G.)
Génétique fondamentale	Lejeune (J.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie	Coury (Ch.)
Histologie et Embryologie	Tuchmann-Duplessis (H.)
— —	Coujard (R.)
Hygiène et méd. préven.	Boyer (J.)
Médecine du Travail	Desoille (H.)
Médecine légale, Droit méd. et déontologie	Derobert (L.)
Microbiologie (Bactériol. et virologie)	Fasquelle (R.)
Parasitologie	N...
Pathologie chirurgicale	Laurence (G.)
—	Kuss (R.)
—	Verne (J.-M.)
Pathologie exotique	Brumpt (L.-C.)
Pathologie expér. et comp.	Merklen (F.-P.)
Pathologie médicale	Laroche (Cl.)
—	Bricaire (H.)
—	Péquignot (H.)
Pathologie respiratoire	Turiaf (J.)
Pathologie et thér. génér.	Maurice (P.)
Pharmacologie	Boissier (J.-R.)
—	Lechat (P.)
Physiologie	Bargeton (D.)
—	Parrot (J.)
Physiologie et path. obst.	Lepage (F.)
Radiologie médicale	Desgrez (H.)
Technique chirurgicale et Chirurgie expérimentale	N...
Thérapeutique	Lamotte (M.)
Thérapeutique appliquée	N...

b) Professeurs a titre personnel :

Anatomie	Cabrol (Ch.)
Anatomie anthropologique	Olivier (G.)
Anatomie pathologique	Nezelof (Ch.)
Bactériologie	Barbier (P.)
Biochimie médicale	Dreyfus (J.-Cl.)
Biologie médicale	Bourlière (F.)
Parasitologie	Larivière (M.)
Pathologie expérimentale	Loeper (J.)
Physiologie	Dejours (P.)
	Scherrer (J.)
Physique médicale	Kellershohn (L.)
	Gougerot (L.)
	Roucayrol (J.-Cl.)
	Tubiana (M.)
Radiologie médicale	Fischgold (H.)

UNIV. LEIDEN BIBL.

2° CHAIRES DE SCIENCES CLINIQUES

a) Professeurs titulaires :

	MM.
Cliniques :	
— carcinologique	Denoix (P.)
— carcinologique chirurg. (Necker)	Redon (H.)
— cardiol. (Broussais)	Soulié (P.)
— cardiol. (Boucicaut)	Lenègre (J.)
— chirurgicales : *Beaujon :* Baumann (J.) - *Cochin :* Leger (L.) - *Hôtel-Dieu :* Patel (J.) - *Saint-Antoine :* Gosset - *Salpêtrière :* Sicard (A.) - *Tenon :* Olivier (Cl.).	Lortat-Jacob (J.-L.) ;
— chirurg. orthopéd. et traumatol. (Cochin)	Merle d'Aubigné (R.)
— chirurg. orthopéd. et traumatol. (Foch)	Padovani (P.)
— chirurg. orthopéd. et traumatol. (Beaujon)	Cauchoix (J.)
— chirur. infant. et orthop. (Enfants-Malades)	Fèvre (M.)
— chirurgie cardio-vascul. (Broussais)	Dubost (Ch.)
— chir. thorac. (Laennec)	Mathey (J.)
— dermatol. (Saint-Louis)	Duperrat (F.)
— endocrinolog. (Pitié)	Decourt (J.)
— Génét. médic. (Enfants-Malades)	Lamy (M.)
— chir. et gynéc. (Broca)	Huguier (J.)
— maladies cutanées et syphilit. (Saint-Louis)	Degos (R.)
— maladies des enfants (Enfants-Malades)	Turpin (R.)
— malad. infect. (Claude-Bernard)	Mollaret (P.)
— malad. mentales et de l'encéph. (Sainte-Anne)	Delay (J.)
— maladies du sang (Broussais)	Bernard (J.)
— malad. du système nerveux (Salpêtrière)	Castaigne (P.)
— médicales : *Bicêtre :* Deparis (M.) - *Broussais :* Milliez (P.) - *Cochin :* N... - *Hôtel-Dieu :* Bariéty (M.) - *Pitié :* Dreyfus (G.) - *Saint-Antoine :* Conte (M.) ; Kourilsky (R.) ; Boudin (G.).	
— d'hydrologie et de climatologie (Bichat)	Debray (Ch.)
— médicale infantile et pédiatrie sociale (Enfants-Malades)	Marie (J.)
— médicale propédeutique (Broussais)	Justin-Besançon (L.)
— médico-sociale du diabète sucré et des maladies métabol. (Hôtel-Dieu)	Derot (M.)
— néphrologique (Necker)	Hamburger (J.)
— neuro-chirurgie (Pitié)	David (M.)
— neurolog. (Salpêtrière)	Garcin (R.)
— obstétricales : *Baudelocque :* Lacomme (M.) - *Saint-Antoine :* Merger (R.).	
— obstétricale et gynécol. (Port-Royal)	Varangot (J.)
— ophtalmol. (Hôtel-Dieu)	Offret (G.)
— ophtalmolog. (Cochin)	Bregeat (P.)
— oto-rhino-laryngologique (Lariboisière)	Aubry (M.)
— pédiatrie (Trousseau)	Mozziconacci (P.)
— pédiatrie et de puéricul. (Saint-Vincent-de-Paul)	Thieffry (S.)
— pneumo-phtisiologie (Laennec)	Brouet (G.)
— neuro-psychiatrie infantile (Salpêtrière)	Michaux (L.)
— rhumatologie médicale et sociale (Cochin)	Coste (F.)
— rhumatol. (Lariboisière)	Sèze (S. de)
— stomatol. (Salpêtrière)	Dechaume (M.)
— thérap. chirur. (Vaugirard)	Roux (M.)
— thérapeutique médicale (Saint-Antoine)	Lemaire (A.)
— toxicologique (Widal)	Gaultier (M.)
— traumat. et orthopédique (R. Poincaré)	Judet (R.)
— urologique (Cochin)	Aboulker (P.)
— urologique (Necker)	Couvelaire (R.)
Hygiène et clinique de la 1re enfance (Trousseau)	Laplane (R.)
Séméiologie médicale (A. Chantin)	Domart (A.)
— (Lariboisière)	Bouvrain (Y.)
— (Pitié)	Rambert (P.)
— (Rothschild)	Wolfromm (R.)
Séméiologie et clinique chirurgicales (Broussais)	Poilleux (F.)

b) Professeurs a titre personnel :

Hématologie	André (R.)
	Bousser (J.)
Hydrologie et climatologie	Giberton (A.)
Maladies infectieuses	Bastin (R.)
Médecine : Azerad (E.) ; Bour (H.) ; Caroli (J.) ; Dreyfus (B.) ; Grossiord (A.) ; Lambling (A.) ; Launay (Cl.) ; Payet (M.) ; Perrault (M.) ; Siguier (F.) ; Worms (R.).	
Néphrologie	Richet (G.)
Neuro-chirurgie	Le Beau (J.)
Neurologie	Lhermitte (F.)
Neuro-psychiatrie	Pichot (P.)
Oto-Rhino-Laryngologie	Maduro (R.)
Pédiatrie	Polonovski (Cl.)
	Royer (P.)
Pneumo-Phtisiologie	Kreis (B.)
	Meyer (A.)
Rhumatologie	Delbarre (F.)

II. — PROFESSEURS SANS CHAIRE

	MM.
Anatomie pathologique	GOUYGOU (Ch.)
Bactériologie	CHRISTOL (D.)
Biochimie médicale	CARTIER (P.)
	GONNARD (P.)
	NORDMANN (J.)
Biologie médicale	HARTMANN (L.)
Chirurgie	CERBONNET (G.)
Hématologie	BILSKI-PASQUIER (G.)
Maladies infectieuses	DUPONT (V.)
Neuro-psychiatrie	TARDIEU (G.)
Pédiatrie	ROSSIER (A.)
Physique médicale	COURSAGET (J.)
	GREMY (F.)
Physiologie	GIRARD (Fr.)
Stomatologie	CHAPUT (Mme A.)

III. — PROFESSEURS DÉTACHÉS DANS LES UNIVERSITÉS ÉTRANGÈRES

Bactériologie : M. HAUDUROY (P.), *pr. s. ch.*

Pathologie chirurgicale : M. RUDLER (J.), *pr. s. ch.*

IV. — PROFESSEURS ASSOCIÉS

Hormonologie ..... MORICARD (R.)

Statistique médicale et épidémiologique ..... SCHWARTZ (D.)

Secrétaire général de la Faculté : M. LENA (J.).
Conseiller administratif : Mlle CHAINTREUIL (G.).
Conservateur en Chef de la Bibliothèque, Conservateur du Musée d'Histoire de la Médecine : M. le Docteur HAHN (A.).

Conservateurs : Mlles DUMAITRE (P.), LAURENT (H.), LE NOIR (G.).
Bibliothécaires : Mmes CONTET (J.), FORGET (F.), Mlles DUROSOY (M.-F.), ROBERGE (D.), Docteur SCHILLER (J.).

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MA FEMME

A Monsieur le Professeur Robert FASQUELLE

Professeur de la Chaire de Microbiologie
à la Faculté de Médecine de Paris
Médecin des Hôpitaux de Paris

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse.

Qu'il trouve ici l'hommage de notre respectueuse gratitude et le témoignage de notre profond respect.

A Monsieur le Professeur Claude MOREL

Professeur Agrégé de Microbiologie
à l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie de Caen

Qui nous a suggéré le sujet de cette thèse.

Qu'il trouve ici l'expression de notre sincère et respectueuse reconnaissance pour son aide et sa sympathique bienveillance.

A Monsieur le Professeur Jacques PORIN

Directeur de l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie de Caen

Hommages respectueux.

A MES MAITRES
DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE
ET DU CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE
DE CAEN

INTRODUCTION

« La pourriture d'hôpital... », c'est ainsi que les chirurgiens des hôpitaux militaires désignent, au XIX[e] siècle, ces suppurations bleu verdâtre des plaies qui sévissent plus ou moins constamment en milieu hospitalier. On sait déjà, à cette époque, que l'apparition du pus bleu sur une plaie engage rarement le pronostic vital et, surtout, qu'elle élimine tout risque de gangrène gazeuse ; seul le pronostic local est compromis dans l'immédiat, car la plaie, loin de cicatriser, tend à se creuser, retardant ainsi la guérison.

A la fin du siècle dernier, L. PASTEUR et R. KOCH fondent la microbiologie et révolutionnent la médecine traditionnelle ; ils confirment scientifiquement l'origine microbienne des maladies contagieuses, déjà pressentie par les grands esprits médicaux de l'époque ; c'est ainsi que BRETONNEAU écrit à BLACHE, dès 1855 : « Un germe spécial, propre à chaque contagion, donne naissance à chaque maladie contagieuse. » Certains chercheurs se penchent alors sur ces épidémies à pus bleu des salles de chirurgie, et GESSARD est le premier, en 1882, à isoler l'agent responsable : un petit bâtonnet très mobile qu'il nomme « *Bacillus pyocyaneus* ». Dès lors, la connaissance de *Pseudomonas æruginosa* devait progresser de façon spectaculaire au cours des années suivantes.

GESSARD individualise plusieurs types de pigments diffusibles sécrétés par le germe et distingue quatre races de bacilles pyocyaniques : la race P élabore seulement le pigment bleu, la pyocyanine ; la race F seulement un pigment vert fluorescent ; la race A donne les deux à la fois ; et enfin la race S ne forme aucun pigment.

CHARRIN étudie longuement la « maladie pyocyanique expérimentale » pour tenter de préciser les différentes manifestations pathologiques des « poisons » du germe : manifestations vasomotrices, hémorragiques et convulsivantes. Au cours de cette étude, il découvre avec ROGER, en 1889, un élément fondamental de la biologie générale des bactéries : le phénomène de l'agglutination.

Enfin, entre 1899 et 1902, Emmerich et Loew isolent d'un filtrat de culture du germe, une substance capable de détruire *in vitro* de nombreuses autres bactéries ; ils confirment ainsi l'observation déjà ancienne de Pasteur sur l'antagonisme microbien entre la bactéridie charbonneuse et le bacille pyocyanique, qu'il concluait d'ailleurs de ces termes : « Ces faits autorisent les plus grands espoirs au point de vue thérapeutique. » Il s'agit du premier antibiotique isolé au point de vue historique.

Fait assez surprenant, ces idées restent inexploitées, et c'est seulement grâce à la découverte de la pénicilline, par Fleming, en 1941, qui, cristallisant l'attention sur tous les phénomènes d'antagonisme microbien, permit l'étude approfondie des substances antibactériennes du bacille pyocyanique. Mais, souligne R. Fasquelle :

> « Il est piquant de constater que *Pseudomonas æruginosa,* qui est à l'origine de la découverte des antibiotiques, retrouve précisément une importance en médecine à l'occasion des traitements antibiotiques, mais dans un tout autre sens que celui qu'on aurait pu imaginer. »

Sans aucun doute, l'avènement et la multiplication de l'antibiothérapie ont contribué à faire éclore la pathologie de *Pseudomonas æruginosa.* Depuis 1945, le bacille pyocyanique provoque, avec une fréquence croissante, des infections diverses, parfois très sévères, survenant par petites épidémies, presque exclusives au milieu hospitalier. Il partage ce renouveau d'actualité avec d'autres germes comme les *Staphylocoques,* les *Proteus,* les *Escherichia,* les *Alcaligènes,* les *Moraxellas,* les *Serratias,* à tel point que prend naissance une véritable pathologie hospitalière de surinfection : « cross infection » des auteurs anglo-saxons, ou « hospitalisme », terme adopté par Mollaret qui, au premier congrès européen sur l'hospitalisme, en décembre 1966, jetait ce cri d'alarme :

> « L'hôpital devient une source redoutable de contaminations infectieuses, et, si l'on n'y prend pas garde, dans quelques décennies, nous nous trouverons dans la situation qu'avait connue, à Rouen, Charles Nicolle, où la maternité hissait le drapeau noir lorsque les risques de fièvre puerpérale devenaient trop élevés. »

Cette véritable promotion hospitalière du bacille pyocyanique a fait considérablement progresser la connaissance de la biologie du germe ; on s'est aperçu que ce petit bacille Gram négatif possédait des caractères morphologiques, culturaux, métaboliques et antigéniques tout à fait spécifiques, qui le situaient sur le plan bactériologique au rang des espèces fondamentales.

* *

Pour traiter de « la promotion hospitalière de *Pseudomonas æruginosa,* nous avons adopté le plan suivant :

Chapitre I : La pathologie humaine.

L'étude de la pathologie humaine du pyocyanique est scindée en deux parties ; la première traite des conditions étiologiques particulières qui président à la naissance de cette pathologie ; la seconde est l'étude analytique des localisations infectieuses du germe, distinguées en infections :

— superficielles, cutanées, oculaires, otitiques ;
— et profondes, urinaires, septicémiques, méningées, respiratoires, ostéo-articulaires et gastro-intestinales.

Chapitre II : Pseudomonas æruginosa.

Ce chapitre bactériologique comprend :

— d'une part, l'analyse des principales propriétés du bacille pyocyanique : morphologie, culture, propriétés métaboliques ou enzymatiques, caractères antigéniques, antagonisme microbien et propriétés antibactériennes, pouvoir pathogène expérimental, et le problème du diagnostic bactériologique ;
— d'autre part, l'étude de 56 souches de *Pseudomonas æruginosa,* isolées au Laboratoire de Bactériologie du C.H.U. de Caen. Nous l'avons envisagée sous l'angle pratique de l'identification de *Pseudomonas æruginosa* au Laboratoire.

Chapitre III : Le traitement.

C'est le problème essentiel des infections à *Pseudomonas æruginosa ;* nous l'aborderons sous deux rubriques, le traitement prophylactique et l'antibiothérapie.

* *

Nous tenons à remercier ici les médecins, chirurgiens et biologistes du C.H.U. de Caen qui nous ont accueillis dans leur Service, nous ont aidés de leurs conseils et nous ont permis de disposer de leurs dossiers et observations, et de les publier dans le présent travail.

CHAPITRE I

PATHOLOGIE HUMAINE

Avant l'ère des antibiotiques, le bacille pyocyanique est considéré comme un germe d'importance secondaire, commensal habituel de la peau, des muqueuses et de l'intestin de l'homme.

De faible virulence, il n'intervient qu'à titre d'élément de surinfection des plaies, qu'il colore en un bleu vert caractéristique. On le tient exceptionnellement pour responsable d'infections graves, car, comme le souligne très justement R. FASQUELLE :

> « L'éventualité de l'infection d'un organisme déficient par des germes non virulents ne se rencontrait pas ; à chaque fois en effet, des germes virulents prenaient le pas sur les germes non virulents qui, ainsi, n'avaient pas l'occasion de se manifester. »

A New York, de 1910 à 1924, FORKNER ne retrouve que quatre cas de méningite à pyocyanique sur un total de 3.178. En 1927, au *XIX^e^ Congrès Français de Médecine*, ARLOING, DUFOURT et LANGERON constatent que, dans les années précédentes, il n'y a eu qu'un seul cas d'infection générale à *Pseudomonas æruginosa*, et ne dénombrent que quatorze observations connues à cette date.

Depuis 1945, il apparaît avec une fréquence croissante, sous forme de petites épidémies hospitalières, et détermine des localisations infectieuses très diverses, souvent redoutables.

Toutes les publications traitant de l'infection à pyocyanique soulignent sa progression :

FORKNER, en 1958, relève vingt-trois cas de septicémie en trois ans. CURTIN, en 1961, en publie quatre-vingt-onze cas observés en dix-huit ans ; l'analyse de cette dernière statistique met d'ailleurs en évidence des conditions étiologiques particulières : enfants prématurés avec ou sans malformations congénitales, hémopathies malignes,

manœuvres instrumentales ou chirurgicales. Vic-Dupont, J.F. Monsallier, H. Rochant et F. Vachon, en 1964, analysent vingt-six cas d'infections sévères à bacilles Gram négatif, traitées à la Clinique des Maladies Infectieuses de l'Hôpital Claude-Bernard depuis l'introduction du méthane sulfonate de colistine ; dans huit des douze infections à pyocyanique observées — quatre méningites purulentes et huit septicémies — l'évolution est fatale malgré le traitement.

Stanley, en 1947, rassemble soixante et onze cas de méningite à bacille pyocyanique avec quarante-huit décès ; Forkner, en 1957, en relève deux cent trente cas en trois ans, avec un pourcentage équivalent de mortalité.

En réanimation respiratoire, à l'Hôpital Claude-Bernard, chez cinq cent dix malades trachéotomisés et présentant soit une poliomyélite respiratoire, une polyradiculonévrite de Guillain-Barré, un tétanos, un coma toxique, un emphysème pulmonaire, Vic-Dupont, J. Lissac et Ph. Amstutz, en 1962 notent trente-sept cas d'infection plus ou moins sévère du poumon ou de bactériémie à bacille pyocyanique, avec dix-sept décès. Chez quinze malades surviennent des accidents infectieux non spécifiques, à hémoculture négative, d'évolution fatale en deux à trois jours.

En 1966, C. Amiel, N. Fleurguin, J.C. Laroche et A. Minkowski rapportent dix-huit cas d'infections graves à *Pseudomonas æruginosa* observés au Centre de Prématurés de Baudelocque, de 1959 à 1963.

Au C.H.U. de Caen, le bacille pyocyanique, seul ou associé à des germes variés, a été isolé au Laboratoire de Bactériologie, dans cinq cent soixante-trois prélèvements de produits pathologiques, en l'espace de trois ans. L'origine de ces prélèvements est très variée ; ils seront schématiquement regroupés, selon les services d'où ils proviennent, en prélèvements de médecine, de chirurgie et de réanimation.

L'augmentation des isolements de *Pseudomonas æruginosa* au laboratoire apparaît à l'évidence sur le *Tableau I* : en deux ans, les prélèvements de produits pathologiques contenant du pyocyanique ont plus que doublé.

Services hospitaliers	1964	1965	1966	Total pour chaque origine
Médecine	77	93	182	352
Réanimation	12	29	38	79
Chirurgie	27	51	54	132
Total par an	116	173	274	563
Pourcentage d'augmentation		46 %	57 %	

TABLEAU I : *Augmentation des isolements de bacilles pyocyaniques dans les produits pathologiques, de 1964 à 1966, au C.H.U. de Caen* (Prof. agrégé C. MOREL)

Sur le tableau suivant (*Tableau II*), les relations existant entre l'origine du prélèvement et les sources probables de la contamination s'établissent d'elles-mêmes ; on s'aperçoit ainsi que, dans les services de réanimation, le pyocyanique est isolé dans 48 pour 100 des cas, des sécrétions trachéales, dans 29 pour 100 des cas, des urines, et dans 11 pour 100 des cas, des lésions cutanées ; que dans les services de chirurgie, il prédomine au niveau des plaies cutanées, 31 pour 100, qu'il est assez fréquemment retrouvé dans les urines 19 pour 100, ou les voies aériennes supérieures 15 pour 100, et qu'enfin, il complique assez souvent les plaies opératoires pleuro-pulmonaires 7 pour 100, viscérales 11 pour 100, ou osseuses 11 pour 100. Dans les services de médecine, les pourcentages sont dans l'ensemble plus homogènes si l'on tient compte des épidémies d'otites et de diarrhées infantiles qui en modifient un peu l'interprétation.

Telles apparaissent, en général, les portes d'entrées de l'infection hospitalière à pyocyanique et les sources probables de la contamination.

Quelles sont maintenant les autres circonstances étiologiques qui expliquent cet accroissement de virulence, ces infections plus ou moins graves à localisations particulières, cette promotion hospitalière du bacille pyocyanique ?

ORIGINE DES ISOLEMENTS	SERVICES HOSPITALIERS		
	MEDECINE	REANIMATION	CHIRURGIE
Peau	75 = 21 %	9 = 11 %	41 = 31 %
Oreille moyenne	51 = 14 %	1	0
Conjonctive	17 = 4,8 %	1	0
Urines	41 = 11 %	24 = 30 %	26 - 19 %
Sang	7 = 2 %	1	0
Liquide céphalo-rachidien	2	0	4 = 3 %
Sécrétions trachéo-bronchiques	44 = 12 %	38 = 48 %	19 = 14 %
Os	0	0	15 = 11 %
Selles	106 = 30 %	5	1
Liquide pleural	4 = 1 %	0	10 = 7 %
Viscères	3	0	17 = 12 %
Vagin	2	0	1
TOTAL	352	79	132

TABLEAU II : *Origine de 563 isolements de bacilles pyocyaniques, de 1964 à 1966, au C.H.U. de Caen* (Prof. agrégé C. MOREL)

LES CONDITIONS ETIOLOGIQUES DE L'INFECTION A " PSEUDOMONAS ÆRUGINOSA "

Considérée autrefois comme secondaire, la pathologie du pyocyanique a pris, depuis 1940, une extension considérable. Elle est liée à sa fréquence sans cesse croissante, à la gravité exceptionnelle de certains de ses aspects cliniques, aux problèmes thérapeutiques qu'elle occasionne, et enfin, aux considérations étiopathogéniques que suscitent son apparition depuis l'avènement des antibiotiques et son développement presque exclusif en milieu hospitalier.

C'est sans conteste, *l'apparition des antibiotiques qui a contribué à faire éclore les infections à pyocyanique*. FINLAND, JONES et BARNES, en colligeant toutes les observations de septicémies à pyocyanique et à proteus, observées dans le même hôpital de 1934 à 1954, ont constaté que ce type de septicémie est absolument exceptionnel avant 1935, c'est-à-dire avant l'ère des sulfamides, très rare encore avant 1941, c'est-à-dire avant l'avènement de la pénicilline, mais que sa fréquence s'est accrue depuis cette date, et encore plus depuis 1947, c'est-à-dire depuis l'apparition des antibiotiques à large spectre d'action. Une statistique, citée par M. Y. CHABBERT, montre combien depuis l'utilisation des antibiotiques, les germes « rares » ont nettement pris le pas sur l'espèce bactérienne prédominante : sur cinq mille soixante-neuf scarlatines traitées par la pénicilline, 4,6 pour 100 ont fait des complications otitiques ; sur les germes isolés, la moitié étaient des pseudomonas ou des proteus, et la moitié des staphylocoques ; les streptocoques n'ont été isolés que dans 0,1 pour 100 des cas.

L'utilisation de plus en plus fréquente de l'antibiothérapie, qui sélectionne les espèces microbiennes les plus résistantes, au détriment des espèces les plus sensibles — pathogènes et saprophytes naturels — modifie profondément l'équilibre de la flore bactérienne normale ; en ne permettant qu'aux seuls germes résistants de se développer, elle opère une véritable sélection à rebours de bactéries telles que le pyocyanique. Celui-ci possède, en outre, des capacités enzymatiques multiples lui permettant de subvenir à ses besoins nutritionnels à partir d'éléments les plus simples et, partant, de s'adapter aux conditions difficiles créées par l'antibiothérapie. Aussi trouve-t-on dans l'intestin de sujets traités aux antibiotiques, une flore constituée pour 80 pour 100 de bacilles pyocyaniques.

Le deuxième aspect étiopathogénique caractéristique de l'infection à pyocyanique, *c'est son développement presque exclusif en milieu hospitalier.*

Dans l'immense majorité des cas, l'origine de la contamination est exogène, et c'est pendant son séjour à l'hôpital que le malade est contaminé. En 1961, HAMBURGER constatait :

> « Dans un service de réanimation, les malades ne sont pour la plupart pas infectés à leur entrée, et pourtant l'infection secondaire constitue une des causes principales de mortalité. »

Le typage sérologique et la lysotypie des pyocyaniques permettent de prouver l'identité entre les souches isolées chez les sujets hospitalisés et celles retrouvées dans le milieu ambiant. BEERENS considère d'ailleurs le pyocyanique comme tellement caractéristique de l'infection hospitalière, que la seule constatation de ce germe dans les urines d'un malade témoigne, pour lui, à coup sûr, d'un séjour à l'hôpital.

La multiplicité des traitements antibiotiques en milieu hospitalier assure la sélection d'une souche particulièrement résistante et dangereuse. Bien adaptée aux conditions difficiles de croissance, elle se développe largement dans le milieu où sont traités les malades et contamine le personnel, le matériel et les instruments utilisés ; on a pu même retrouver le bacille pyocyanique dans des solutions de pénicilline, d'acide borique, de désinfectants et d'agents anesthésiques. STEG et ABOULKER citent, à ce sujet, une épidémie d'infections urinaires à pyocyanique, dont ils retrouvèrent le point de départ dans la solution antiseptique où l'on trempait les appareils d'endoscopie.

La troisième condition étiologique est représentée par *la multiplication actuelle des risques de contamination*. Tout soin, toute manœuvre instrumentale, diagnostique ou thérapeutique, — paracentèses, sondages, cathétérismes, dialyses, circulation extra-corporelle, respirateurs artificiels, etc., — a fortiori si elle est effectuée sous couverture antibiotique, peut représenter la porte d'entrée de l'infection, la contamination se faisant par l'intermédiaire du matériel utilisé, du personnel — et le pyocyanique affectionne particulièrement les sécrétions glandulaires de la peau (plis cutanés, sueur, sébum) — ou du milieu ambiant. A ce propos, LAURENCE attribue l'origine de la recrudescence des infections post-opératoires à la conjonction de deux facteurs principaux :

> « L'imperfection résiduelle d'une discipline aseptique incapable, aujourd'hui comme hier, d'interdire strictement les contaminations per-opératoires, en particulier les contaminations de source atmosphériques ; et la substitution, à la flore normale des salles aseptiques, qu'on a pris le pli de négliger, de souches microbiennes

sélectionnées par les antibiotiques, multi-résistantes, hautement pathogènes, qui infectent désormais les locaux chirurgicaux et transforment le pronostic des moindres interventions. »

Enfin, dernier élément à prendre en considération, étroitement lié aux précédents : *le rôle du terrain.* Tous les auteurs sont d'accord pour souligner la gravité du pronostic aux deux âges extrêmes de la vie ; ainsi, dans la statistique de FINLAND, la plupart des cas mortels de septicémie à pyocyanique concerne soit de tout jeunes enfants, soit des sujets ayant dépassé soixante-dix ans. Mais tous les sujets débilités, atteints d'affections graves, aux possibilités de défense naturelle amoindries, offrent en fait un terrain propice à l'infection pyocyanique.

Toutes les conditions étiologiques qui prévalent à l'infection pyocyanique étant ainsi définies, quel va être le devenir de ce germe une fois introduit dans l'organisme humain ?

LES INFECTIONS A PYOCYANIQUE

Dans l'organisme, le bacille pyocyanique peut se comporter de façon fort différente selon les cas. Bien souvent, sa présence n'entraîne aucune manifestation pathologique décelable ; parfois existent seulement quelques troubles infectieux mineurs sans spécificité ; et généralement, c'est sa découverte, chez des sujets prédisposés — dans les sécrétions trachéo-bronchiques de sujets trachéomisés, dans les urines après sondage ou exploration instrumentale de l'arbre urinaire, dans les selles de prématurés en milieu contaminé — qui fera parler d'infection latente, avec la réserve qu'elle puisse constituer la porte d'entrée d'une infection localisée ou généralisée, dans l'immédiat ou plus tardivement, lors d'une nouvelle exploration.

Sur le plan étiopathogénique, les infections à pyocyanique peuvent être classées en infections primitives, résultant d'une inoculation directe, traumatique, du germe au niveau du tissu atteint — c'est le cas habituel — et en infections secondaires, liées à sa propagation à partir d'une localisation infectieuse primitive, et dont l'éventualité redoutable est la généralisation septicémique.

Cependant en situant l'étude de la pathologie infectieuse du pyocyanique sous l'angle du pronostic et de la thérapeutique, on peut distinguer, en pratique, deux grands chapitres : les infections superficielles et les infections profondes.

A) Les infections superficielles

Devenues de plus en plus fréquentes au cours de ces dernières années, les infections superficielles, cutanéo-muqueuses, sont en général facilement accessibles aux antiseptiques et aux antibiotiques par voie locale. Si leur gravité n'engage pratiquement jamais le pronostic vital, elles grèvent cependant l'avenir immédiat du malade de leur chronicité et du retard de cicatrisation qu'elles entraînent.

1) Infections cutanées

C'est le cas des infections cutanées — pyodermites, escarres, ulcères de jambes surinfectés — des brûlures, des plaies post-traumatiques ou post-opératoires. La pigmentation bleu verdâtre s'y développe avec prédilection et des conditions d'anaérobiose relative favorisent une protéolyse locale et extensive des tissus. Plaoutine note qu'en traumatologie, les surinfections à pyocyanique sont relativement fréquentes :

> « La suppuration apparaît généralement le lendemain ou le surlendemain de l'intervention, que le germe ait été introduit au moment de l'accident, au moment de l'intervention ou à la faveur d'un pansement. Le point de départ est souvent un hématome. Il semble qu'il y ait une prédominance de ces infections aux membres inférieurs. L'évolution est toujours très longue, avec formation de fistules qui restent ouvertes pendant plusieurs mois, laissant sourdre un liquide séro-purulent dont on peut isoler le germe. A leur fermeture peut succéder un abcès que l'on est obligé d'inciser ou dont l'ouverture spontanée constitue parfois une urgence chirurgicale. »

• Citons l'exemple de *Mlle F...*, dix-sept ans, qui fut hospitalisée à la suite d'une chute de mobylette, dans un service de chirurgie, pour une importante perte de substance cutanée au niveau du talon gauche, mettant à nu le tendon d'Achille et le calcanéum. Le lambeau cutané retrouvé fut aussitôt greffé sur la plaie, en milieu chirurgical, sous couverture antibiotique de pénicilline et de streptomycine. Lors du premier pansement, effectué quinze jours plus tard en salle d'opération, on constatait l'élimination du lambeau greffé et une suppuration bleu verdâtre de la plaie, hautement évocatrice ; l'examen bactériologique retrouvait le bacille pyocyanique et l'antibiogramme révélait que la souche n'était sensible, *in vitro*, qu'à la colimycine, à la polymyxine B et au nibiol. Dix jours après la mise en route d'un traitement spécifique associant, par voie générale, colimycine et bristopen, et localement, nettoyage à l'acide borique et polymyxine B, on

observait la disparition de la suppuration bleuâtre ; mais la plaie restait inchangée et aucun signe ne permettait d'évoquer l'amorce d'une cicatrisation : l'examen bactériologique retrouvait encore du pyocyanique. Le traitement était poursuivi en y adjoignant une botte plâtrée avec fenêtre, et la cicatrisation, déjà lente à obtenir, était en plus émaillée d'une surinfection staphylococcique.

2) Atteintes oculaires

Les atteintes oculaires à pyocyanique sont connues depuis fort longtemps. Il s'agit en général de conjonctivites, de dacryocystites, de kératites, et surtout d'ulcères cornéens, observés essentiellement dans les services de réanimation, lorsque l'occlusion des yeux est rendue impossible par une maladie neurologique (comas profonds, paralysies faciales) ou une curarisation imposée par un tétanos sévère ; l'évolution est alors centrée par la rapide extension de la nécrose et la perte de la vision. Vic-Dupont, J. Lissac et Ph. Amstutz rapportent six cas d'infection oculaire chez des malades tétaniques curarisés ; le pyocyanique a été retrouvé au niveau des lésions chez au moins trois d'entre eux. Dans trois cas, la conséquence de cette infection a été la perte complète de la valeur fonctionnelle d'un des yeux, par taie cornéenne étendue pour l'un, par fonte purulente de l'œil pour les deux autres. La contamination par des collyres et autres solutions médicamenteuses a été incriminée à plusieurs reprises.

3) Atteintes otiques

Le pyocyanique n'épargne pas l'oreille moyenne. Il contamine de façon importante un grand nombre d'otites moyennes chroniques. Fréquentes, douloureuses et traînantes, les otites à pyocyanique peuvent se compliquer de mastoïdite, plus rarement d'abcès du cerveau, de thrombophlébite du sinus latéral ; quelques cas de méningite par extension directe ont été signalés (Hennemann).

• Citons l'exemple de *Monsieur B...*, trente-deux ans, soigné depuis plusieurs mois par l'association streptomycine, isoniazide, P.A.S. pour une tuberculose pulmonaire apicale droite ; la survenue d'une hypoacousie gauche, mise d'emblée sur le compte de la streptomycine, se révèle être liée à une otite chronique moyenne, d'où sont isolés un bacille pyocyanique et un staphylocoque.

• L'exemple de l'enfant T..., vingt et un mois, hospitalisé pour une rougeole, qui un mois plus tard présentait une otite bilatérale avec fièvre à 39°C, écoulement purulent des deux conduits auditifs, dans lequel on isolait un bacille pyocyanique, un staphylocoque et un streptocoque du groupe D.

B) Les infections profondes

Moins fréquentes, mais nettement plus graves dans leur ensemble, les infections profondes à pyocyanique résultent, en général, de l'inoculation directe, instrumentale, de souches sélectionnées par le milieu hospitalier et particulièrement résistantes aux antibiotiques, à des sujets prédisposés, soit par leur état pathologique antérieur, soit par une antibiothérapie polyvalente intempestive, ou par les deux à la fois. Le pronostic de ces infections dépend bien sûr du siège et de l'importance des lésions infectieuses, de l'état préalable du malade, mais aussi et surtout de deux éléments : *l'éventualité d'une généralisation septicémique, complication redoutable, et l'efficacité de l'antibiothérapie spécifique, dont il faut connaître, dans certaines conditions, l'absence de parallélisme entre les résultats observés* in vitro *et* in vivo.

1) Les infections urinaires

Autrefois, la découverte du bacille pyocyanique dans les urines suscitait plus de surprise que d'inquiétude. Actuellement, ce germe représente un problème majeur dans l'infection urinaire, par sa fréquence croissante — selon Finland, elle est passée de 10 à 30 pour 100 des cas en dix ans, — et par la gravité de ses complications septiques.

La symptomatologie de ces infections urinaires est habituellement peu spécifique. Sur le plan du pronostic, on peut opposer schématiquement deux aspects cliniques différents :

Des formes mineures :

Infection cliniquement latente, révélée par la découverte du germe lors d'examens systématiques des urines, ou infection urinaire banale, se traduisant par une cystite, une fièvre irrégulière et une pyurie. Elles ne posent pas, en règle, de problèmes difficiles : elles sont sensibles au traitement et les complications s'avèrent exceptionnelles.

Des formes majeures :

Il s'agit habituellement au début, d'infections à germes banaux, traitées par des cures plus ou moins prolongées d'antibiotiques ou de sulfamides, et souvent entretenues par une stase urinaire chronique dont les obstacles sur les voies excrétrices, les affections prostatiques

et les myélopathies avec résidu vésical représentent les grandes étiologies. Dès lors, note L. HUMAIR :

> « Une sélection de la flore microbienne s'opère rapidement, et apparaissent alors des germes comme le colibacille, le pyocyanique et le proteus. Il suffit souvent d'un sondage ou d'une autre manipulation sur les voies excrétrices, pour voir ces germes devenir l'agent causal de l'infection. »

L'aspect réalisé est le plus souvent celui de cystites tenaces ou récidivantes, de pyélites, de pyélonéphrites, voire d'abcès périnéphrétique ou de pyonéphrose. Elles comportent un double risque évolutif. Le passage de l'infection à la chronicité n'améliore pas le pronostic : le risque de récidive aiguë reste grand et, d'autre part, toute bactériémie transitoire peut être à l'origine d'une dissémination sanguine. Celle-ci représente en fait la grande complication de l'infection urinaire à pyocyanique, d'autant plus redoutable qu'elle peut se manifester par un collapsus cardiovasculaire isolé ; ce choc bactériémique, en rapport avec une libération massive de substances toxiques par la bactérie (rôle de l'endotoxine lors de la lyse microbienne), s'observe au cours des septicémies à Gram négatif, mais particulièrement avec le pyocyanique. MCHENRY et MARTIN notent trente cas de choc, chez cent treize malades atteints de septicémies à Escherichia coli, Enterobacter, Proteus et pyocyanique ; mais, fait important, la porte d'entrée est génito-urinaire dans 77 pour 100 des cas.

Voici deux observations faisant apparaître les conditions étiologiques de l'infection urinaire à pyocyanique.

• *Madame C...*, soixante-ans, présente depuis de nombreuses années une hypertension artérielle permanente, isolée, jusqu'alors bien tolérée ; l'apparition récente de signes discrets d'insuffisance rénale chronique et d'insuffisance ventriculaire gauche, témoins de la décompensation cardio-rénale de l'affection, motivent l'hospitalisation. Deux jours après son entrée dans le service, brusque ascension thermique à 39°C ; l'existence de douleurs lombaires, de brûlures à la miction et le lendemain d'une petite hématurie macroscopique, font pratiquer un examen cytobactériologique urinaire qui révèle une pyurie abondante et l'origine staphylococcique de l'infection ; il existe une hyperleucocytose à 14.200 avec polynucléose à 81 pour 100, une anémie à 3.600.000, et l'urée sanguine, qui à l'entrée était à 0,60 g, monte à 1,10 g. Sous l'influence d'un traitement antibiotique associant streptomycine et flabelline, les signes cliniques rétrocèdent lentement, et biologiquement l'hyperleucocytose disparaît, l'anémie se répare, l'urée se normalise. Soudain, deux semaines plus tard, survient une nouvelle flambée infectieuse urinaire ; la fièvre est élevée, irrégulière, les signes fonctionnels marqués. L'examen cytobactériologique urinaire retrouve une pyurie importante et de fins bacilles Gram négatifs en culture pure : il s'agit de *Pseudomonas æruginosa*. L'antibio-

gramme est évocateur : résistance aux bêta-lactamines actives sur les Gram négatifs : ampicilline, céphalothine, aux oligosaccharides : streptomycine, kanamycine, framycine, aux macrolides : érythromycine, oléandomycine, aux tétracyclines, au chloramphénicol, au nibiol, à la furadoïne et même à la polymyxine B ; seule en fin de compte, la colimycine s'avère, *in vitro*, active. Parallèlement, l'hyperleucocytose réapparaît et l'urée sanguine s'élève à nouveau. Dès lors, le double traitement de l'insuffisance rénale et de l'infection à pyocyanique ne pourra entraver l'aggravation progressive de tous les symptômes vers l'évolution fatale.

• *Monsieur C...*, cinquante-quatre ans, est hospitalisé pour des troubles mictionnels à type de dysurie, de pollakiurie remontant à plusieurs mois, mais dont l'intensification récente et l'association à des brûlures à la miction, accompagnées de frissons, de sueurs et de quelques douleurs lombaires, évoque un possible retentissement infectieux de l'affection cauale. Le malade a subi auparavant de nombreux traitements antibiotiques. A son entrée, l'examen clinique, en particulier génito-urinaire, est normal ; l'examen cytobactériologique revient également normal le lendemain. Le malade reçoit cependant un traitement anti-infectieux associant bristopen et furadoïne, et on pratique, quelques jours plus tard, une uréthroscopie qui montre un rétrécissement de l'urèthre postérieur. Cinq jours après, brusque poussée infectieuse urinaire avec fièvre à 38°5-39°C, signes fonctionnels intenses. L'examen cytobactériologique retrouvait un bacille pyocyanique associé à un proteus. Un traitement antibiotique par la colimycline était aussitôt institué, et les stigmates cliniques et biologiques de l'infection urinaire disparaissaient en deux à trois semaines.

2) Les septicémies

Beaucoup moins fréquente que la localisation urinaire, *la septicémie demeure cependant la forme la plus grave de l'infection à pyocyanique, mortelle dans plus de deux tiers des cas.*

Dans l'infection urinaire, les rôles de l'antibiothérapie dans la sélection des souches résistantes et de la contamination directe par les manœuvres instrumentales dominent les circonstances étiologiques ; ici, ceux du terrain, débile aux âges extrêmes de la vie ou débilité par une affection grave, et de la contamination secondaire à un foyer infectieux primitif, sont au premier plan de l'étiologie.

Chez des sujets particulièrement prédisposés, la septicémie peut bien sûr résulter d'une contamination directe, instrumentale, lors d'un cathétérisme, d'une rachicentèse, voire d'une injection parentérale. En chirurgie cardio-vasculaire notamment, les malades déjà déficients du fait de leur tare circulatoire, sont exposés à des risques multiples de contamination : interventions larges et complexes, personnel hospitalier nombreux, instruments multiples et de stérilisation souvent difficile. En fait, une localisation infectieuse primitive est le plus souvent

retrouvée à l'origine de la dissémination sanguine, encore qu'il soit parfois difficile de préciser s'il s'agit vraiment de la porte d'entrée de l'infection ou d'une métastase d'une forme septico-pyohémique. Chez l'adulte, ce sont essentiellement les suppurations génito-urinaires, plus rarement les atteintes rhino-pharyngées, qui forment la localisation initiale ; chez l'enfant, il faut redouter les plaies ombilicales, les téguments infectés, les otites surinfectées ; dans tous les cas, il faut connaître la possibilité d'une infection générale à pyocyanique, à partir des plaies et surtout des brûlures.

Il n'existe aucun tableau clinique stéréotypé de septicémie à pyocyanique. Suivant les circonstances étiologiques, la maladie débute progressivement ou brutalement par des frissons, de la fièvre et une altération de l'état général. En fait, l'on se trouve le plus souvent en présence d'un malade atteint d'une affection grave, d'allure septicémique. Son état est inquiétant ; il est prostré, pâle et cyanosé, dyspnéique, tachycardique ; l'anorexie est de règle, souvent accompagnée d'une diarrhée abondante, fétide et glaireuse ; l'abdomen est ballonné, le foie augmenté de volume, la rate parfois palpable ; l'ictère n'est pas exceptionnel. Suivant le groupement de ces signes, Verliac distingue une forme typhoïde avec fièvre à plateau, splénomégalie et troubles digestifs, et une forme septicopyohémique avec frissons, fièvre oscillante, altération plus marquée de l'état général, et localisations métastatiques viscérales nombreuses : méningites purulentes, entérites, localisations pleuro-pulmonaires, otites.

Bien souvent, seul l'état septicémique est reconnu, et c'est l'hémoculture qui fait le diagnostic du germe responsable. En réalité, l'élément capital est de penser à la possibilité d'une septicémie et de demander une hémoculture devant toute fièvre inexpliquée, chez un malade qui remplit toutes les conditions présidant à l'apparition des septicémies à pyocyanique. Toutefois quelques éléments permettent, de temps à autre, d'évoquer une étiologie pyocyanique ; ce sont bien sûr la présence d'une localisation initiale jugée responsable de la dissémination hématogène, ou une contamination exogène ; c'est l'inconstante, mais classique, leucopénie avec granulopénie, formule sanguine inhabituelle dans la plupart des septicémies ; c'est surtout l'existence d'une lésion cutanée tout à fait particulière : l'ecthyma gangréneux de Ehlers. Il s'agit d'une lésion maculo-papuleuse, puis vésiculaire, siégeant avec prédilection dans la région ano-génitale, mais également sur le tronc, à la face interne des cuisses et aux aisselles. La vésicule à contenance louche, riche en bacilles, se rompt et laisse place à une croûte noirâtre, nécrotique, entourée d'un étroit anneau érythémateux ; puis le tissu nécrosé s'élimine, laissant une ulcération hémorragique.

Le pronostic de ces septicémies est encore sombre, malgré l'introduction de nouveaux antibiotiques. Bien plus, il faut insister sur la fréquence et la gravité du collapsus cardio-vasculaire, ou choc bactériémique, souvent mortel en l'absence de réanimation attentive.

Citons trois observations illustrant les données précitées :

• *L'enfant G...*, cinq mois, a présenté, trois semaines avant l'hospitalisation, une bronchite qui fut traitée par la pénicilline. A l'arrêt de ce traitement, apparaît une rougeur intense de la peau au niveau du siège et des membres ; le lendemain, l'érythème se couvre de petites papules, la fièvre monte à 40°C, l'enfant devient cyanosé, dyspnéique, il présente une diarrhée glaireuse et des vomissements. Vingt-quatre heures plus tard, l'état empire : des convulsions apparaissent, la fièvre se maintient en plateau à 39°5-40°C.

A son entrée dans le service, l'examen clinique retrouve les éléments suivants :

— une éruption importante, atteignant les membres inférieurs — surtout au niveau de leur face postérieure —, la plante des pieds, les organes génitaux, maximale dans la partie basse du dos, et respectant la face, le thorax et les membres supérieurs ; elle est constituée successivement d'éléments papuleux très durs, en gains de plomb, entourés d'une auréole érythémateuse, puis de vésicules à liquide séreux, qui s'ombiliquent, deviennent hémorragiques et laissent enfin une croûte noirâtre de sang coagulé ; leur taille est variable, de 1 cm pour les plus petits, à 3 ou 4 cm pour les éléments confluents ;

— un enfant prostré, gémissant, au regard fixe, présentant des convulsions ; c'est un aspect d'encéphalite, mais l'état cutané du dos ne permet pas de pratiquer une ponction lombaire ;

— l'auscultation pulmonaire montre de nombreux râles disséminés dans les deux champs pulmonaires ; la radio ne retrouve qu'une discrète opacité du sommet gauche ;

— enfin, l'enfant refuse toute alimentation ; la diarrhée glaireuse persiste ; on ne retrouve pas d'éruption au niveau des muqueuses digestives.

Devant ce tableau grave d'éruption phlycténulaire à tendance hémorragique et nécrotique, avec encéphalite, atteinte pulmonaire, troubles digestifs, fièvre élevée, antécédents de traitement antibiotique, le diagnostic de septicémie à pyocyanique est d'emblée évoqué ; on effectue, aussitôt, des prélèvements multiples au niveau des vésicules, des croûtes, des cavités nasales et buccales, du sang — puis on institue d'urgence un traitement antibiotique polyvalent et énergique : l'enfant reçoit par jour 250.000 U de colimycine, 500 mg de bristopen, 25 cg de solnicol, 4 mg de soludécadron et du valium.

Les premiers résultats de laboratoire viennent bientôt confirmer l'hypothèse diagnostique : la numération globulaire - formule sanguine, demandée en urgence, révèle l'existence d'une leucopénie à 1.100 éléments par mm^3 avec 4 pour 100 de polynucléaires ; tous les prélèvements bactériologiques effectués contiennent du pyocyanique : gorge, nasopharynx, sérosité de bulle, croûte et surtout l'hémoculture est positive. La souche isolée résiste, *in vitro*, aux bêta-lactamines actives sur les Gram négatifs : ampicilline et céphalothine, aux oligosaccharides : streptomycine,

kanamycine, aux macrolides : érythromycine, oléandomycine, aux tétracyclines, au chloramphénicol, à la novobiocine, à la furadoïne, au négram ; elle n'est sensible, *in vitro,* qu'à la colistine et au nibiol.

Sous l'influence du traitement qui semble avoir été suffisamment intense et précoce, on observe une amélioration très lente de l'état de l'enfant ; aucune complication n'apparaît, et seulement deux mois plus tard, l'enfant est considéré comme guéri.

• *L'enfant S...,* sept mois, est hospitalisé en urgence dans un état inquiétant. Il est pâle, prostré, polypnéique, refuse toute alimentation, a une fièvre à 39°-39,5°C depuis deux jours ; l'abdomen est ballonné, le foie augmenté de volume, la rate palpable ; il existe un œdème des mains et de la paroi de la région sous-ombilicale de l'abdomen, une éruption maculo-papuleuse des membres inférieurs et du bas-ventre, des ecchymoses extensives sur les mains et les pieds. Devant ce tableau d'allure septicémique, un traitement associant bristopen, solnicol et soludécadron est institué dès que les investigations para-cliniques indispensables — hémoculture, ponction lombaire, numération globulaire, formule sanguine — sont effectuées.

Néanmoins, l'état s'aggrave considérablement dans la soirée ; la gêne respiratoire s'accentue, des plaques érythémateuses et ecchymotiques recouvrent maintenant tout le corps, il apparaît des convulsions ; l'enfant meurt en quelques heures dans un tableau toxique de collapsus cardio-vasculaire, d'insuffisance respiratoire et d'encéphalite irréversibles.

Le lendemain, les résultats du laboratoire révélaient le diagnostic : septicémie à pyocyanique : l'hémoculture était positive, le liquide céphalo-rachidien purulent, mais aseptique ; il existait enfin une hyperleucocytose avec polynucléose.

• Enfin voici l'observation de *Monsieur C...,* quarante-quatre ans. Il s'agit schématiquement d'un malade qui présente, depuis un an environ, une fièvre au long cours — poussées fébriles à 40°C, intermittentes, de trois à quatre jours, avec asthénie extrême, arthralgies —, une atteinte très sévère de l'état général dont témoigne un amaigrissement de 15 kg, et un syndrome pleuro-pulmonaire de la base droite, avec polypnée, expectoration muco-purulente, matité et râles sous-crépitants. Tous les essais thérapeutiques nombreux et variés qui avaient été jusqu'alors tentés, sans diagnostic précis de l'affection causale, se sont avérés inefficaces.

A l'entrée dans le service, deux diagnostics sont évoqués. En premier lieu, celui d'une septicémie à staphylocoque devant cette fièvre au long cours avec altération de l'état général, vitesse de sédimentation accélérée, le foyer pulmonaire, clinique et radiologique, la découverte d'une folliculite au niveau de la face et du dos, et de staphylocoques dans l'expectoration ; cependant, on ne retrouve pas de staphylocoque dans le sang lors de la première hémoculture, ni de splénomégalie, ni d'anémie avec hyperleucocytose (4.700.000 hématies, 7.100 leucocytes avec 76 pour 100 de neutrophiles et 17 pour 100 de lymphocytes). Puis celui d'un lupus érythémateux disséminé ; en sa faveur, les accidents articulaires les premiers en date, les épisodes fébriles à répétition, l'atteinte de l'état général, la vitesse de sédimentation très accélérée, l'augmentation des alpha-2 et des

gamma-globulines à l'électrophorèse, les épisodes pleuro-pulmonaires brefs mais récidivants ; par contre, on ne retrouve ni éruption typique, ni signes rénaux, ni anémie avec leucopénie.

Comme l'état général du malade décline très rapidement malgré un traitement antibiotique, antistaphylococcique par le totapen — trois fois par jour, 5 g en perfusion —, on décide d'y adjoindre la corticothérapie : 4 ampoules de soludécadron à 4 mg. Le résultat est spectaculaire et l'état du malade s'améliore très rapidement.

Deux jours après, le laboratoire fournissait les résultats suivants :

— recherche des cellules de Hargraves positive avec présence de rosettes caractéristiques ;

— hémoculture positive à pyocyanique et staphylocoque. Celle-ci devait d'ailleurs se négativer rapidement sous l'influence d'un traitement antibiotique, orienté par les données de l'antibiogramme et de l'étude du pouvoir bactéricide des associations qui comprenaient : pyostacine, thiophénicol et gentamycine.

3) Les méningites

Comme les septicémies, les méningites à *Pseudomonas æruginosa* constituent une des formes les plus graves de l'infection pyocyanique, mortelles pour Forkner dans environ 47 pour 100 des cas. Suivant le mode de contamination et l'aspect clinique réalisé, on peut schématiquement en distinguer deux types, — les méningites primitives et les méningites secondaires, — de pronostic fort différent : Forkner signale que la mortalité est de 39 pour 100 pour les premières, et de 66 pour 100 pour les secondes.

Méningites primitives :

Les méningites primitives sont typiquement celles de l'adulte. Succédant à l'inoculation directe du bacille pyocyanique dans les espaces sous-arachnoïdiens, elles s'observent en général après une rachicentèse, une rachianesthésie, une encéphalographie, une myélographie, ainsi qu'après toutes les interventions neuro-chirurgicales.

Leur symptomatologie ne diffère guère des autres méningites à pyogènes (Lepintre). L'incubation est souvent courte, vingt-quatre à quarante-huit heures. Le début est brusque et, en quelque heures, se constitue un tableau typique de méningite aiguë : la céphalée est constante, intense, pénible ; l'association classique de vomissements et de constipation est souvent remplacée par un simple état nauséeux et de la diarrhée ; la fièvre est à 39-40°C ; les signes méningés : raideur de la nuque, signe de Kernig, sont rapidement évidents. La ponction lombaire ramène un liquide trouble, très riche en albumine, contenant une véritable « purée » de polynucléaires ; les germes sont

retrouvés à l'examen direct et identifiés en culture. Roussel note quelques nuances cliniques pouvant permettre de penser au pyocyanique ; la présence de signes oculaires : diplopie avec strabisme, mydriase, baisse de l'acuité visuelle et l'existence d'une distension abdominale.

L'évolution de ces méningites primitives est conditionnée, bien sûr, par l'efficacité de l'antibiothérapie, liée elle-même à la sensibilité du germe aux antibiotiques et à la diffusion de ceux-ci dans le liquide céphalo-rachidien. Dans un certain nombre de cas cependant, la méningite va évoluer sur un mode subaigu durant des semaines, voire des mois, avec des rémissions trompeuses et des rechutes brutales ; parallèlement, la résistance du germe va se compléter, la gamme des antibiotiques actifs se restreindre. Le pronostic de ces formes est toujours réservé et la guérison définitive souvent bien difficile à affirmer.

Méningites secondaires :

Les méningites secondaires sont plus fréquentes chez le nourrisson. Il peut s'agir d'une méningite par propagation ou d'une méningite métastatique. Dans la première, la cause essentielle est représentée par l'otite moyenne, réalisant le plus souvent une otorrhée chronique à poussées successives ; le germe se propage par le sinus latéral, le sinus pétreux supérieur et surtout les veines émissaires. Par opposition, la méningite métastatique est celle dont le germe provient soit d'une septicémie, soit d'un foyer à distance, par l'intermédiaire d'une bactériémie : plaie ombilicale, foyers urinaires ou entériques, lésions broncho-pulmonaires.

Leur tableau clinique est souvent estompé par l'infection primitive et c'est surtout leur recherche systématique par la ponction lombaire qui posera le diagnostic. Ceci est d'autant plus important que le pronostic de ces méningites secondaires est dans l'ensemble fort grave, l'efficacité du traitement antibactérien spécifique étant toujours proportionnelle à la précocité du diagnostic.

4) Les infections respiratoires

La pathologie respiratoire du bacille pyocyanique peut être envisagée sous trois rubriques : en pneumo-phtisiologie, en réanimation respiratoire et en chirurgie thoracique.

1) Dans la première circonstance clinique, les lésions pulmonaires à pyocyanique peuvent apparaître, comme les méningites, primitives ou secondaires.

Les infections respiratoires primaires semblent être les moins fréquentes. Elles peuvent succéder à l'inoculation directe, instrumentale, de bacilles pyocyaniques dans la plèvre, lors d'une ponction pleurale, d'une insufflation, ou être déclenchées par une bronchoscopie qui, en traumatisant la muqueuse bronchique, favorise la dissémination de la flore bactérienne saprophyte. Bien plus souvent, en fait, il s'agit d'atteintes parenchymateuses à germes banaux qui se surinfectent par le pyocyanique. Dans les deux cas, on retrouve en général les deux conditions étiologiques majeures qui président à l'éclosion d'une infection à pyocyanique : une antibiothérapie prolongée, préventive ou curative, déséquilibrant la flore microbienne normale et sélectionnant les germes résistants, un terrain débilité, résistant mal aux agressions microbiennes.

Du point de vue sémiologique, on décrit en général trois tableaux principaux, mais il est absolument impossible de prévoir la nature du germe responsable avant les résultats de l'examen bactériologique. La bronchopneumonie est fréquemment rapportée ; elle survient le plus souvent chez des sujets hypothéqués, surtout les irradiés et les leucosiques ; la symptomatologie est intense et les opacités floues, multiples et généralisées, retrouvées à la radio, perturbent profondément l'hématose et grèvent lourdement le pronostic. L'abcès du poumon est également décrit ; unique ou multiple, sa symptomatologie suit les données classiques ; c'est la complication la plus fréquente des atteintes parenchymateuses. Enfin, le pyocyanique est aussi rendu responsable de bronchites purulentes aiguës, parfois segmentaires, d'évolution habituellement favorable.

E. Gascard, C. Delboy et Mme P. Farisse soulignent la fréquence des infections respiratoires à pyocyanique : 16 pour 100 de l'ensemble des pneumopathies d'un service de médecine générale en dix mois. Sur un total de huit cas, ils retrouvent trois localisations pleuro-pulmonaires autonomes, deux abcès du poumon, une bronchite segmentaire, et cinq cas d'infections pulmonaires accompagnant une autre maladie générale : deux cas de bronchite, un de broncho-pneumonie, un d'atélectasie et un de pleurésie purulente.

Voici deux observations :

• *Monsieur M...*, quarante-neuf ans, ancien tuberculeux (culmanectomie et résection atypique du Nelson), cirrhotique, reçoit un traitement par la terramycine à l'occasion d'un épisode bronchitique banal ; huit jours plus tard, il était hospitalisé, en urgence, dans un tableau de broncho-pneumonie sévère — l'examen bactériologique des crachats retrouvait l'association du pyocyanique, de staphylocoque et de streptocoque du groupe D.

• *Madame G...*, soixante-treize ans, diabétique, broncho-emphysémateuse, hospitalisée pour une névrite aiguë, reçoit pendant dix-sept jours l'association de pénicilline et de tétracycline. Brusquement survenait une bronchite purulente aiguë et l'on identifiait dans l'expectoration une flore prédominante de bacilles pyocyaniques ; sous un traitement prolongé par la colimycine qui s'était révélée seule active *in vitro*, on assistait à la guérison progressive de l'infection.

2) L'infection à pyocyanique est un problème délicat en réanimation respiratoire. Ce germe apparaît, en effet, chez 80 pour 100 des trachéomisés. La trachéotomie entraîne une modification considérable de la physiologie bronchique : la muqueuse devient le siège d'une contamination permanente, du fait de la canule elle-même et des sondes d'aspiration ; en règle générale, le pyocyanique persiste dans les voies aériennes tant que la trachée reste ouverte et disparaît à sa fermeture.

Les travaux de Vic-Dupont, J. Lissac et Ph. Amstutz fournissent à ce sujet des notions importantes. Selon ces auteurs, le bacille pyocyanique peut être tenu pour responsable, soit d'infection latente, car la même flore est en général retrouvée chez les sujets trachéomisés surinfectés et chez les témoins, soit d'un encombrement des voies aériennes, complication essentiellement mécanique, sans grande participation infectieuse, cédant remarquablement aux techniques de désobstruction bronchique, soit plus rarement, d'infections pulmonaires vraies. Elles surviennent précocement, quelques jours après l'ouverture de la trachée, plus fréquemment dans les tétanos et les comas toxiques, ont une symptomatologie marquée, à type de broncho-pneumonie, d'abcès du poumon ou de lésions mixtes d'alvéolite et d'obstruction bronchique ; leur pronostic est sombre, surtout dans les formes broncho-pneumoniques où prédominent les troubles de l'hématose ; il est dominé en règle par la possible survenue d'un collapsus cardio-vasculaire ou d'une insuffisance rénale ; l'hémoculture est exceptionnellement positive et l'hypothèse d'un choc endotoxémique reste à prouver.

3) En chirurgie thoracique, les surinfections à pyocyanique sont loin d'être exceptionnelles. Elles résultent, le plus souvent, d'interventions chirurgicales sur l'appareil broncho-pulmonaire pour traiter une infection tuberculeuse ou une tumeur. Et, le notent MM. Leménager, Bézard,

> « elles posent des problèmes thérapeutiques importants à cause de leur tendance à la chronicité, empêchant la cicatrisation des plaies opératoires, et mettant la vie du malade en danger par la

persistance de la suppuration. Cette tendance à la chronicité n'est en effet, ni réduite, ni même freinée par les traitements antibiotiques ».

Voici d'ailleurs l'observation citée par ces auteurs et recueillie au C.H.U. de Caen :

• *Monsieur M... Alexandre,* vingt-huit ans.

Le 14 novembre 1956, lobectomie supérieure gauche pour tuberculose pulmonaire ulcéro-nodulaire.

Dans les suites de cette lobectomie, un pyothorax surinfecté par le pyocyanique se constitue.

Examen du pus pleural (31 janvier 1957) :

— Examen direct : quelques hématies, innombrables leucocytes polynucléaires très altérés, assez nombreux bacilles Gram négatif.
— Culture : bacilles pyocyaniques.
— Recherche du bacille de Koch : examen direct positif (quelques bacilles).
— Résistance aux antibiotiques : souche résistance à la pénicilline, streptomycine, auréomycine, terramycine, chloramphénicol, bacitracine, érythromycine, tétracycline.

On tente de traiter cette infection à pyocyanique par des injections locales de soframycine (mars 1957). Aucune amélioration n'est obtenue.

En septembre 1957, on essaie la polymyxine par voie générale. Celle-ci est administrée en injection intra-musculaire du 16 septembre au 23 septembre 1957 à raison de 100 mg deux fois par 24 heures. (Pendant la même période, on administre également par voie pleurale la polymyxine à raison de 50 mg par injection quotidienne.) Un effet sensible est obtenu sur la courbe de température, mais la suppuration persiste.

L'administration de polymyxine par voie générale ne peut être poursuivie en raison de l'apparition de traces d'albumine au terme de cette semaine de traitement. L'urée sanguine cependant demeurait normale et il n'existait pas, par ailleurs, de signes de néphrite.

Devant la persistance de cette suppuration pleurale à pyocyanique, on envisage de pratiquer une thoracoplastie, mais plusieurs causes retarderont longtemps cette intervention :

— l'état général du malade qui doit être restauré par des perfusions et un traitement vitaminique ;
— un état d'hypocoagulabilité qui demeure transitoire et qu'aucun des tests hématologiques ordinaires n'a permis de rattacher à une étiologie précise ;
— une amylase rénale, suspectée à l'apparition d'un syndrome œdémateux et objectivée par les examens d'urines successifs et les électrophorèses.

Le 11 décembre 1958, intervention par le Docteur J. Bézard :

— thoracotomie du sixième espace ;
— vaste cavité pleurale dans laquelle s'ouvre la bronche lobaire supérieure gauche fistulée ;

— le moignon bronchique est isolé, suturé au nylon gainé enfoui sous un lambeau musculaire ;
— la cavité pleurale est comblée par une myoplastie utilisant le muscle grand dorsal et par une thoracoplastie partielle supérieure de cinq côtes ;
— deux drains sont laissés à demeure pour injection locale de polymyxine.

Pendant une période de deux mois suivant l'intervention, la polymyxine fut administrée localement au niveau de la plaie opératoire, à raison de 50 mg par jour.

Résultat remarquable : on assiste d'une part à la disparition du pyocyanique des expectorations (dernier examen positif le 7 janvier 1959), et d'autre part à la réduction de la suppuration et à la cicatrisation de la plaie en des conditions normales. Le cliché pulmonaire de janvier 1959 révèle la réduction de la poche pleurale collabée à un mince couloir qui restera drainé jusqu'au 10 avril, date à laquelle on enlève le drain de façon définitive, toute trace de la plaie ayant aujourd'hui disparu.

5) Les autres localisations infectieuses a pyocyanique sont plus rares

Les infections ostéo-articulaires :

Attribuées dans presque tous les cas à une dissémination hématogène, les arthrites et ostéomyélites à pyocyanique sont très rares. Forkner, dans sa monographie, relève 32 cas d'atteinte ostéo-articulaire, dont la moitié chez l'enfant. En effet, il s'agit surtout de nourrissons, rarement de prématurés. Le cordon ombilical, le tube digestif sont les portes d'entrée incriminées ; deux cas sont signalés après exsanguino-transfusion.

Les arthrites à pyocyanique de l'adulte surviennent dans 90 pour 100 des cas à la suite d'infections urinaires, principalement après cathétérismes, cytostomies et prostatectomies. Le pubis, le sacrum, les articulations coxo-fémorales, la colonne vertébrale et les genoux sont les endroits les plus fréquemment touchés.

Cependant la contamination exogène ne doit pas être dédaignée. Forkner signale le cas d'un enfant de cinq ans atteint de leucémie aiguë qui développe une arthrite du genou avec température. La première ponction ramène un liquide stérile, riche en polynucléaires ; les ponctions ultérieures mettent en évidence du *Pseudomonas æruginosa*. Les arthrites pyocyaniques par contamination exogène doivent être plus nombreuses que celles citées dans la littérature.

Les lésions gastro-intestinales :

Les lésions gastro-intestinales dues au pyocyanique ont une morphologie semblable à celles observées dans les autres organes. Il

s'agit d'une entérocolite hémorragique et ulcéreuse pouvant aboutir parfois à la nécrose. L'infestation se fait par voie intestinale ou par voie hématogène. Expérimentalement, il est connu que la souris irradiée meurt de septicémie à pyocyanique, bacille normalement trouvé dans son tube digestif.

Ce germe est souvent responsable des diarrhées épidémiques du nouveau-né, épidémies qui peuvent prendre des proportions importantes. Chez l'adulte, l'entérite à pyocyanique, observée sous les tropiques, peut être confondue avec la fièvre typhoïde : les diarrhées sanglantes, la température élevée, les vomissements avec déshydratation, les rash cutanés ainsi que l'ictère sont les symptômes communément observés.

CHAPITRE II

PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Gessard, en 1882, isola du pus d'un pansement coloré en bleu une bactérie mobile, élaborant ce pigment bleu que Fordos avait extrait dès 1860 et nommé « pyocyanine ». Le « *Bacillus pyocyaneus* » de Gessard devenait, en 1895, « *Pseudomonas pyocyanea* » ; Engler et Prault voulaient ainsi distinguer ces bactéries mobiles des protozoaires, appelés « monas ». Enfin, c'est à Migula que l'on rattache la terminologie actuelle de *Pseudomonas æruginosa,* æruginosa rappelant la teinte d'airain, métallique, caractéristique de ses colonies.

Espèce type du genre *Pseudomonas,* le bacille pyocyanique, ou *Pseudomonas æruginosa,* occupe une position taxinomique un peu différente selon que l'on se réfère à la classification de Prévot et Brisou, ou à celle de Bergey. Schématiquement, la classification de Prévot et Brisou confère à la pigmentation une importance particulière, et ne donne pas à la position des flagelles une valeur taxinomique ; celle du Bergey's manual, au contraire, repose sur la base du système ciliaire, exclusivement polaire ; elle introduit en plus la notion de métabolisme oxydatif et la production de pigment n'y est pas obligatoire. Il ne nous appartient pas de discuter ces difficiles problèmes de taxinomie et, à la fin de cette étude, nous essayerons simplement de définir *Pseudomonas æruginosa* sur la base de certains caractères majeurs, constamment retrouvés dans chaque souche, qui mettent en cause la morphologie et la physiologie fondamentale de la bactérie.

Contrairement à de nombreuses espèces de *Pseudomonas,* le bacille pyocyanique est rarement retrouvé dans la nature, notamment dans les eaux. C'est plutôt un commensal habituel de l'homme et des animaux, au niveau des téguments sains, des sécrétions glandulaires en particulier, ou des muqueuses : cavités digestives, urinaires, vaginales. Il peut, dans certaines conditions, devenir virulent, et les diverses manifestations pathologiques dont il est responsable ont été

décrites plus haut, en insistant sur son *caractère de germe de surinfection, hautement sélectionné par les antibiotiques, le milieu hospitalier et le terrain même du malade.*

Pseudomonas æruginosa constitue avec le bacille de Whitmore, ou *Pseudomonas pseudomallei,* les seules espèces pathogènes pour l'homme du genre *Pseudomonas :* trois autres espèces, quoique jamais pathogènes, seront cependant mentionnées au chapitre du diagnostic différentiel, car elles sont très fréquemment rencontrées chez l'homme ou dans les produits naturels : *Pseudomonas fluorescens, Pseudomonas putida* et *Pseudomonas stutzeri.*

I. — ETUDE BACTERIOLOGIQUE DE " PSEUDOMONAS ÆRUGINOSA "

A) La morphologie

Pseudomonas æruginosa apparaît comme un fin bâtonnet rectiligne, parfois légèrement incurvé, aux extrémités finement arrondies, toujours assez mince, d'environ 0,5 μ de large, de longueur très variable, entre 1 et 3 μ en général (des formes filamenteuses pouvant s'observer dans les cultures âgées), isolé ou groupé en petits amas.

Il est surtout remarquable par :

— *Sa mobilité,* grâce à un cil polaire généralement unique — *ciliature polaire monotriche* — aisément colorable par la méthode de Rhodes. Dans les cultures jeunes, des aspects amphitriches peuvent être observés ; ils correspondent à des formes de prédivision.

— La présence possible, dans les cultures, *d'une substance muqueuse péribacillaire,* réalisant un aspect de pseudo-capsule, et formant des colonies muqueuses.

Elle tend à diminuer la mobilité du germe et peut gêner la coloration des flagelles. Pour pallier à ces inconvénients, on peut soit centrifuger légèrement en eau physiologique une suspension de bacilles : le surnageant contient alors les bactéries les moins muqueuses et les plus mobiles, soit émulsionner les germes dans de l'eau bidistillée contenant 0,1 mg d'hyaluronidase pour 1 ml.

Pinghiu V. Liu a montré que cette substance muqueuse s'apparentait, dans une certaine mesure, à la capsule polysaccharidique du pneumocoque : elle agit, dans la pathogénie de l'infection, en inhibant la phagocytose de *Pseudomonas æruginosa* par les polynucléaires et exalte ainsi sa virulence. Elle est antigénique et les antisérums

correspondants agglutinent les bacilles et protègent la souris de l'infection ; cette protection est spécifique de type, car elle n'est effective que pour les souches de *Pseudomonas æruginosa* ayant le même type sérologique de substance muqueuse péribacillaire.

Cependant une différence importante la distingue de la capsule du pneumocoque : elle n'est pas fermement liée à la surface de la cellule et a tendance à diffuser dans le milieu environnant. Sa nature est mal connue, mais les travaux d'HALLECK suggèrent qu'il s'agit d'un acide désoxyribonucléique hautement polymérisé.

Pseudomonas æruginosa ne conserve pas la coloration de Gram ; il prend facilement les couleurs d'aniline, en réalisant souvent des aspects bipolaires, ou barrés, tigrés, notamment dans les produits pathologiques.

L'aspect microscopique d'une bactérie est à lui seul insuffisant pour en permettre l'identification précise : l'aspect des cultures, ses exigences nutritives, ses capacités métaboliques la caractérisent beaucoup mieux.

B) La culture

1) Caractères culturaux

Pseudomonas æruginosa est très peu exigeant ; il se développe facilement sur les milieux nutritifs usuels, et des milieux synthétiques simples lui fournissant une source de carbone ou d'azote (sels d'ammonium, citrate de sodium...).

La température optima de culture, favorisant à la fois la croissance bactérienne et son activité enzymatique, se situe entre 30° et 37°C ; mais la tolérance thermique est grande, puisqu'il peut cultiver entre 5° et 42°C. Cette dernière température est d'ailleurs importante, car elle permet de le différencier de *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida,* qui ne cultivent pas à 42°C. Le pH optimum est de 7,2 avec une tolérance de pH 6 à 8.

Sur les milieux usuels, les caractères culturaux de *Pseudomonas æruginosa* sont assez particuliers :

— La culture en bouillon nutritif réalise, en vingt-quatre heures, un trouble homogène abondant et une fine pellicule grisâtre en surface, adhérant sur le tube, qui par la suite s'épaissit, se fragmente et sédimente.

Deux caractères sont surtout remarquables : *la coloration bleu-vert fluorescente* apparaissant en surface, ou révélée par agitation du tube, et *l'odeur aromatique* particulière, comparée à celle des

fleurs de seringa ou d'acacia, et due à la production de triméthylamine.

— Sur gélose nutritive, l'aspect de la culture est tout aussi évocateur. A l'isolement, trois types de colonies peuvent être observées. Les colonies de type M, muqueuses, coulantes, et de type S (Smooth), lisses, brillantes sont assez rares, et proviennent généralement de lésions suppurées.

L'aspect habituel est réalisé par des *colonies de type intermédiaire SR ;* ce sont des colonies de 3 à 4 mm, surélevées, opaques, nacrées au centre, avec un bord plus plat, devenant irrégulier ; la juxtaposition à de toutes petites colonies de 0,5 à 1 mm est très fréquente ; très rapidement, elles prennent l'aspect de colonies de type R (Rough), larges, plates, ternes, à bords irréguliers et à surface martelée, dont le reflet métallique, irisé, traduisant l'apparition de zones de lyse, est très caractéristique.

Là aussi, une pigmentation bleu-vert apparaît dans la culture, autour des colonies, souvent même dès la vingt-quatrième heure, puis diffuse dans la gélose.

2) Les pigments

Fordos fut le premier, en 1860, à extraire le pigment du pus bleu ; il l'obtint même sous forme cristallisée, et le nomma « pyocyanine » (du grec puon = *pus* et kuanos = *bleu*). Gessard, dix-neuf ans après avoir isolé et décrit le *Bacillus pyocyaneus,* en reprenait l'étude et décrivait quatre types essentiels de pigments diffusibles :

— *La pyocyanine ou pigment bleu.* C'est un dérivé de la phénazine, soluble dans l'eau et le chloroforme.

L'extraction chloroformique revêt une certaine importance diagnostique, car elle permet de le mettre en évidence sur des milieux où il est masqué par la pyoverdine. Par cette technique, Wrede, en 1930, l'obtient sous forme de cristaux bleus en aiguilles, orientés en étoiles, et peut l'identifier chimiquement : α-oxy, N-méthylphénazine.

En solution aqueuse, il se comporte à la fois *comme un indicateur de pH,* rouge en solution acide (pH = 3), incolore en solution neutre (pH = 7) et bleu-violet en solution alcaline (pH = 11); et comme un indicateur *d'oxydo-réduction, de rH ;* il donne naissance, par oxydation, à un pigment jaune, appelé pyoxanthose, et, en milieu réducteur à un leucodérivé.

— *Le pigment fluorescent ou pyoverdine.* De nature chimique imprécise, il est soluble dans l'eau, l'acide acétique, mais pas dans le

chloroforme. C'est également un *indicateur de pH*, incolore et non fluorescent en solution acide, jaune-vert fluorescent en solution neutre, et jaune-brun fluorescent en solution alcaline, *et de rH* : il est oxydé en un pigment brun-rouge, la pyorubine.

— Les pigments rose-rouge, dits érythrogènes, et brun-noir, dits mélanogènes, sont produits par de rares souches de *Pseudomonas æruginosa*. Ils sont insolubles dans l'eau et le chloroforme et insensibles aux variations de pH.

Le rôle de ces pigments est double ; il concerne à la fois l'identification de l'espèce *Pseudomonas æruginosa* et des mécanismes enzymatiques particuliers de son métabolisme.

• *Seul le pigment bleu est caractéristique du bacille pyocyanique.* Le pigment vert fluorescent peut en effet être élaboré par d'autres espèces de *Pseudomonas*, considérées actuellement comme non pathogènes pour l'homme, telles que *Pseudomonas fluorescens* et *Pseudomonas putida*.

Gessard avait distingué quatre races de pyocyanique : la race A élaborant la pyocyanine et la pyoverdine, la race F donnant seulement le pigment vert fluorescent, la race P seulement le pigment bleu, et enfin la race S ne formant aucun pigment. Ces études anciennes conservent toute leur valeur actuellement, et si la variété de bacille pyocyanique la plus couramment isolée de nos jours correspond à la race A de Gessard, il est fréquent de rencontrer des germes ayant tous les caractères de *Pseudomonas æruginosa*, mais ne colorant pas les milieux usuels.

Il peut s'agir bien sûr de conditions de culture ne favorisant pas la production de pigment ; les ions phosphates, nitrates et surtout l'ion sodium inhibent la production de pyocyanine en culture ; le rôle du potentiel d'oxydo-réduction est également important : ainsi avec *Pseudomonas æruginosa*, ce potentiel est souvent suffisant pour que le pigment fluorescent soit oxydé, mais insuffisant pour que le pigment bleu apparaisse ; celui-ci ne s'oxyde et ne se colore qu'après une forte agitation du milieu.

En fait, il s'agit le plus souvent d'authentiques souches de pyocyaniques, mais incapables d'élaborer du pigment, même dans les conditions favorisantes de culture. La supériorité des milieux de King à cet égard, en particulier du milieu B, n'est plus contestée, et pour M. Buttiaux,

> « les *Pseudomonas* non pigmentés sont ceux qui ne synthétisent aucun pigment hydrosoluble décelable en lumière de Wood, après une incubation prolongée à la température optima de développement ».

Les souches de pyocyaniques, partiellement (race F de GESSARD surtout) ou totalement apigmentées, sont le plus souvent isolées chez des malades traités depuis longtemps par les antibiotiques (streptomycine, chloramphénicol, érythromycine en particulier); un rapport certain a d'ailleurs été retrouvé entre la strepto-résistance du germe et la disparition de sa pigmentation.

• *Le rôle des pigments dans la biologie du germe est considérable.* La pyocyanine entre vraisemblablement en jeu dans la respiration cellulaire, en tant que transporteur d'électrons entre les déshydrogénases et le système des cytochromes ; il en est probablement de même pour la pyoverdine, que CÉSAIRE considère comme précurseur de la pyocyanine. Mais ce pigment bleu possède encore d'autres propriétés remarquables : son activité antibiotique, son rôle dans la pathogénie de l'infection ; elles seront examinées plus loin, après l'étude des propriétés métaboliques du bacille pyocyanique.

C) Les propriétés métaboliques ou enzymatiques

1) Le métabolisme respiratoire

Le bacille pyocyanique *est strictement aérobie.* Ensemencé en gélose profonde, il ne se développe qu'à la surface du milieu, dans la zone d'aérobiose, à la condition toutefois que cette gélose ne contienne pas de nitrates (gélose VF ou gélose gélatine sans nitrate); ceux-ci peuvent en effet, en anaérobie, servir d'accepteur d'hydrogène à la place de l'oxygène de l'air et permettre la croissance en profondeur de bactéries aérobies strictes.

La présence, chez *Pseudomonas æruginosa,* d'un équipement enzymatique particulier, ne fonctionnant qu'en aérobiose, a deux traductions pratiques : *la positivité de la recherche de la cytochrome-oxydase* par la méthode de Kovacs, à un moindre degré celle de catalase, et le type très spécial du catabolisme glucidique.

La catalase et la cytochrome-oxydase sont des enzymes respiratoires de la chaîne d'oxydo-réduction cellulaire. La cytochrome-oxydase en représente notamment le dernier maillon, capable d'assurer le transfert direct de l'hydrogène, issu du catabolisme énergétique, jusqu'à l'oxygène moléculaire. Ces deux enzymes existent chez toutes les bactéries susceptibles de croître en présence d'air, mais en plus ou moins grande quantité ; et leur teneur, chez *Pseudomonas æruginosa,* est suffisamment importante pour qu'il soit possible de les mettre en évidence par des techniques simples.

2) Le métabolisme glucidique

Le catabolisme glucidique, source énergétique essentielle à la vie de la bactérie, est *typiquement oxydatif :* il nécessite obligatoirement la présence de l'oxygène de l'air.

Pseudomonas æruginosa n'acidifie pas les milieux peptonés habituellement utilisés ; il faut employer des milieux spéciaux : milieux de Hugh et Leifson, milieux MEVAG (Milieu pour l'Etude de la Voie d'Attaque des Glucides). Faiblement peptonés, très tamponnés et légèrement gélifiés, ils permettent d'éviter que la faible quantité de catabolites acides résultant de l'oxydation des glucides soit neutralisée par les corps basiques issus de la dégradation des peptones, et présentent l'avantage de favoriser leur concentration à la surface du milieu pour obtenir un virage plus rapide et plus net de l'indicateur de pH.

L'utilisation de ces milieux présente un double intérêt taxinomique. D'une part, la recherche du mode d'utilisation du glucose, par l'épreuve de Hugh et Leifson, est aussi utile que celle de la cytochrome-oxydase pour la classification des bacilles à Gram négatif. Quatre groupes de bactéries peuvent ainsi être individualisées : oxydantes (*Pseudomonas æruginosa*), fermentantes, inertes et alcalinisantes. D'autre part, à l'intérieur du genre *Pseudomonas*, l'étude de l'oxydation de différentes glucides permet en général de différencier les espèces entre elles ; ainsi *Pseudomonas æruginosa* oxyde le glucose, le mannitol, le d-arabinose, mais est inactif sur le lactose, le maltose et le saccharose.

Intégrée dans l'étude du métabolisme glucidique, la recherche de l'utilisation du citrate de sodium comme seule source de carbone sur *le milieu synthétique minéral de Simmons, est constamment positive* et semble par là devoir être indispensable à l'identification du genre *Pseudomonas*.

Enfin, sur le milieu de Clark et Lubs, les réactions au rouge de méthyle et de Voges Prauskauer, en rapport respectivement avec la fermentation du glucose et sa dégradation jusqu'au stade de l'acétyl-méthyl-carbinol, sont toujours négatives.

3) Le métabolisme protidique

Au faible pouvoir glucidolytique de Pseudomonas æruginosa, *on lui oppose un fort pouvoir protéolytique*. La gélatine est rapidement liquéfiée en entonnoir le long de la piqûre d'ensemencement, puis en cylindre ; une pigmentation verte apparaît dans la cupule de liquéfac-

tion, puis le milieu se couvre d'un voile. Le sérum de bœuf et l'albumine d'œuf coagulés sont digérés en 24 à 48 heures ; la caséine du lait tournesolé est peptonisée en 2 à 4 jours. Par la technique du film photographique, plus utilisée en pratique, la gélatinase du bacille pyocyanique fait apparaître en quelques heures le support transparent du film, tandis que les sels d'argent sédimentent au fond du tube. Nous verrons ultérieurement que le rôle des enzymes protéolytiques dans la pathogénie des lésions de l'infection pyocyanique est loin d'être négligeable.

Les autres caractères du métabolisme protidique de *Pseudomonas æruginosa* sont d'importance inégale. Cinq d'entre eux ont une valeur considérable, car, pratiquement constants, ils concourent à la définition du genre *Pseudomonas* et de l'espèce *æruginosa* : ce sont d'une part, *la réduction des nitrates soit en nitrites, soit le plus souvent en azote gazeux,* recherchée en bouillon à 1 pour 1.000 de nitrate de potassium, *l'abondante production d'ammoniaque dans les milieux de culture,* en particulier dans l'eau peptonée où le pH atteint pH 8 après 7 jours d'incubation à 25°C, *la positivité de la recherche de l'arginine dihydrolase* par la technique de Moeller ou au moyen du milieu de Falkow sans peptone ; *et d'autre part l'absence de production d'indole* en eau peptonée ou dans le milieu synthétique urée-indole utilisé pour les entérobactéries, *l'absence de lysine et d'ornithine décarboxylases* recherchées par la même technique que l'arginine dihydrolase ou, pour la première, sur le milieu de Kliger-Hajna.

D'autres caractères sont plus contingents. La majorité des *souches* de *Pseudomonas æruginosa* produit une hémolysine révélée sur gélose au sang ; elle semble d'ailleurs jouer un certain rôle dans la pathogénie des lésions. Il n'y a pas, classiquement, de production d'anhydride sulfureux en gélose nutritive molle au sous-acétate de plomb. Enfin, le bacille pyocyanique possède une uréase, non révélée dans le milieu synthétique classique urée-indole-tryptophane, mais apparaissant nettement, en 24 heures et pour l'ensemble des souches, sur le milieu non synthétique gélosé de Christensen.

4) Le métabolisme lipidique

Son étude est essentiellement centrée par la recherche de la lécithinase sur gélose au jaune d'œuf. *Pseudomonas æruginosa* y donne une *réaction « restreinte »*, en rapport avec l'existence d'une lécithinase, plus faiblement active, ou diffusant moins facilement, que celle de certains saprophytes du même genre ; ceci présente d'ailleurs un certain intérêt pour le diagnostic différentiel des espèces de *Pseudomonas.*

D) Les caractères antigéniques

C'est à propos du bacille pyocyanique que CHARRIN et ROGER ont découvert, en 1889, le phénomène de l'agglutination, et c'est par des réactions d'agglutination que l'on caractérise aujourd'hui, de façon très spécifique, les différentes souches de *Pseudomonas æruginosa*. Cette analogie est d'autant plus frappante que la connaissance de la structure antigénique de la bactérie est encore imprécise.

On sait en tout cas qu'elle s'apparente, dans une certaine mesure, à celle de la plupart des bacilles à Gram négatif. Etant cilié, le bacille pyocyanique possède un antigène flagellaire H ; sa nature est mal connue. Il n'en est pas de même de l'antigène somatique O. En 1958, HOMMA et coll. mettaient en évidence, dans l'autolysat de cultures de *Pseudomonas æruginosa*, une substance antigénique et toxique pour la souris. La dose léthale 50 de cette endotoxine était de 0,1 à 0,3 mg, ce qui la situait approximativement au niveau de l'endotoxine des entérobactéries. (Mais Pinghiu V. LIU considère actuellement que son rôle dans la pathogénie de l'infection est loin d'être aussi significatif.) En la fractionnant par électrophorèse de zone, ils obtenaient deux composés : le composé II, un complexe ADN-ARN-polyribose-phosphaté, et le composé I, la fraction essentielle, antigénique et toxique ; sous l'action du formol, celle-ci étaient scindée en une protéine dénaturée et en un composé Iph, ayant les mêmes caractères que le complexe entier : c'est un lipopolysaccharide dont l'extraction, la composition chimique et les propriétés biologiques sont tout à fait superposables à celles du classique antigène de Boivin. Il est spécifiquement précipité par le sérum de lapins immunisés par des suspensions bactériennes homologues, chauffées 2 h 30 à 100°C et formolées.

Ceux-ci donnent surtout *une réaction d'agglutination sur lame des bacilles correspondants ;* elle permet actuellement de caractériser, de façon très spécifique, les souches de *Pseudomonas æruginosa*. Jusqu'à présent, 13 groupes antigéniques O ont été décrits, avec 3 sous-groupes dans les groupes 2 et 5 ; les groupes 01, 05 et 06 paraissent les plus fréquents en France. Il faut cependant noter que, environ 10 pour 100 des souches sont instables et ne peuvent être typées avec certitude.

Outre l'énorme intérêt épidémiologique, le typage antigénique du bacille pyocyanique représente un élément de certitude diagnostique dans la mesure où il n'a jamais été constaté de réactions croisées avec les autres espèces de *Pseudomonas*.

E) L'antagonisme microbien et les propriétés anti-bactériennes

L'antagonisme microbien de *Pseudomonas æruginosa* est connu depuis longtemps. Déjà au XIX[e] siècle, les chirurgiens savaient que l'apparition du pus bleu était, dans une certaine mesure, bénéfique, car il ne s'y associait jamais de gangrène gazeuse ; on savait aussi qu'une culture de bactéridie charbonneuse, ensemencée avec du pyocyanique, ne proliférait plus et finissait par être détruite ; enfin, on avait remarqué qu'il se produisait parfois des phénomènes d'autolyse spontanée des cultures en bouillon, comme avec le pneumocoque.

Schématiquement, les propriétés antibactériennes du bacille pyocyanique peuvent reconnaître trois étiologies distinctes, liées soit aux pigments, aux bactériocines ou à des bactériophages.

• *La lyse chimique est due aux pigments ou à leurs métabolites intermédiaires :*

Dès 1902, EMMERICH et LOEW avaient extrait d'un filtrat de culture du germe une substance capable de détruire *in vitro* de nombreuses autres bactéries ; pensant qu'il s'agissait d'une enzyme, ils la nommèrent « pyocyanase ». Quelques années plus tard, on démontrait que le mécanisme d'action de la pyocyanase n'était pas enzymatique, et en 1932, HETTCHE et KRAMER reconnaissaient des propriétés bactéricides identiques au pigment bleu, la pyocyanine. En fait, c'est surtout la découverte de la pénicilline par FLEMING, en 1941, qui, cristallisant l'attention sur tous les phénomènes d'antagonisme microbien, permit l'étude approfondie des substances antibactériennes du bacille pyocyanique.

SCHOENTAL en 1941, puis HAYS en 1945, en isolèrent plusieurs des cultures de *Pseudomonas æruginosa ;* ces substances étaient toutes chimiquement très apparentées à la pyocyanine, essentiellement bactéricides pour de nombreuses espèces microbiennes, mais toutes inutilisables sur le plan thérapeutique, en raison de leur toxicité élevée. Cependant DERKACH, en 1947, a obtenu une pyocyanine synthétique, moins toxique que la pyocyanine naturelle, de spectre antibactérien pratiquement identique, dont les résultats thérapeutiques étaient intéressants,

> « en usage locale, dans la stérilisation des porteurs de germes diphtériques et en ophtalmologie ; en usage général, dans la brucellose expérimentale ».

• *La lyse par libération de bactériocines : les pyocines :*

Après la découverte des bactériocines chez *Escherichia coli* et leur mise en évidence chez le *Bacillus megaterium* et le staphylocoque,

Jacob, en 1954, montrait que *Pseudomonas æruginosa* élabore lui aussi des substances antibiotiques spécifiques, non virulentes et antigéniques : les pyocines.

Soixante-quinze pour cent des souches de bacille pyocyanique sont pyocinogènes, c'est-à-dire libèrent dans le milieu de culture des substances particulaires, protéiques ou glucidolipidoprotéiques capables de se fixer électivement sur des récepteurs spécifiques de la paroi bactérienne de souches de la même espèce ou d'espèces voisines, et d'entraîner alors un arrêt complet du métabolisme microbien et la mort immédiate de la bactérie. Ce caractère bactériocinogène, qui se transmet par hérédité au moment de la division cellulaire, est lié, on le sait maintenant, à un épisome. Il est relativement stable, mais sa spécificité n'est pas étroite ; quelques pyocines, élaborées par certaines souches de *Pseudomonas æruginosa,* sont actives sur *Pseudomonas fluorescens* et inversement. Son utilisation épidémiologique est, pour cette raison, délaissée au profit de la lysotypie.

• *La lyse bactériophagique :*

La majorité des souches de *Pseudomonas æruginosa* est lysogène, et la spécificité des bactériophages correspondants apparaît nettement plus rigoureuse ; il n'y a pas en particulier de réaction croisée avec *Pseudomonas fluorescens.*

La lysotypie des pyocyaniques est effectuée dans quelques laboratoires spécialisés ; elle présente un grand intérêt pour rechercher *les liaisons épidémiologiques des infections à pyocyanique.*

F) Pouvoir pathogène expérimental

— Le pouvoir pathogène expérimental du bacille pyocyanique est très différent d'une souche à l'autre et sans rapport avec le pouvoir pathogène naturel du germe. Il n'est pathogène chez l'animal qu'à de fortes doses.

L'injection sous la peau du lapin de quelques centimètres cubes d'une culture en bouillon provoque une nécrose hémorragique locale, entourée d'un étroit anneau érythémateux et induré ; le tissu nécrosé s'élimine, laissant une ulcération hémorragique qui se recouvre bientôt d'une croûte noirâtre, en donnant la classique image de l'ecthyma gangréneux de Ehlers. Il s'y associe des manifestations générales : amaigrissement, diarrhée, paralysie du train postérieur, aboutissant le plus souvent à la mort de l'animal en une à trois semaines. A l'autopsie, on découvre des lésions hémorragiques des poumons, de l'intestin, des reins, des nécroses du foie, des abcès multiples et la présence ubiquitaire du bacille pyocyanique.

La lésion anatomo-pathologique, caractérstique de l'infection à pyocyanique, est une *vascularite aiguë et diffuse*. Les parois des artères et des veines sont le siège d'une intense pullulation microbienne, ce qui explique à la fois la facilité de la propagation de l'infection et l'association à des thromboses intra-vasculaires et à des suffusions hémorragiques périvasculaires ; les zones vascularisées par de tels vaisseaux se nécrosent et prennent l'aspect typique d'ulcères gangréneux et hémorragiques ; il est à noter que, classiquement, ces lésions ne sont jamais suppuratives.

Par voie intra-veineuse chez la souris ou le lapin, et par voie intra-péritonéale chez le cobaye, il faut en général utiliser des doses moins fortes pour obtenir des phénomènes analogues : lésions hémorragiques et nécrotiques, abcès viscéraux ; un aspect particulier est évocateur : la péritonite avec vaginalite du cobaye mâle. Sinon, l'animal meurt en douze à quarante-huit heures par toxémie, et l'autopsie ne retrouve qu'une congestion des reins et de l'intestin grêle.

— L'étude du pouvoir pathogène expérimental est en fait peu utilisée en pratique courante pour le diagnostic bactériologique. Elle contribue beaucoup plus à *la connaissance de la pathogénie des infections à pyocyanique*.

Pinghui V. Liu et coll. se sont attachés à préciser, chez l'animal, le rôle de diverses fractions du bacille pyocyanique dans cette pathogénie : la pyocyanine, l'hémolysine, la substance muqueuse péribacillaire, l'endotoxine, les enzymes extra-cellulaires, en particulier : protéase et lécithinase. Pour ces auteurs, le rôle de la pyocyanine et de l'endotoxine paraît réellement secondaire à côté de celui des autres fractions. La substance muqueuse péribacillaire semble, comme la capsule du pneumocoque, protéger la bactérie de la phagocytose et exalter ainsi sa virulence. L'hémolysine et les enzymes extra-cellulaires paraissent directement responsables des lésions caractéristiques produites lors de l'infection, et leur toxicité doit contribuer considérablement à la mortalité des infections généralisées à pyocyanique. Les manifestations hémorragiques et nécrotiques observées au niveau de la peau sont vraisemblablement dues aux enzymes protéolytiques (et, à un moindre degré, à l'hémolysine), tandis que l'œdème et l'induration sont liés à la lécithinase ; au niveau des organes, leurs actions sont dissociées ; les premières causent une nécrose du foie, tandis que la seconde est impliquée dans les réactions hémorragiques des poumons, des intestins et des reins.

Telle se présente l'étude analytique des principaux caractères biologiques de *Pseudomonas æruginosa*. Leur synthèse pose maintenant le problème du diagnostic bactériologique.

G) Diagnostic bactériologique

C'est essentiellement un diagnostic direct, car les méthodes indirectes de séro-agglutination et d'hémagglutination passive, qui ont été signalées, restent d'interprétation difficile et de valeur moindre.

Il est en général grandement facilité par l'apparition des pigments dans la culture, mais la possibilité de trouver, chez l'homme et les animaux, d'authentiques souches de pyocyanique non pigmentées, ou des souches pigmentées appartenant à d'autres espèces du genre *Pseudomonas*, oblige à considérer le problème du diagnostic en dehors du caractère de pigmentation des cultures.

1° *Le diagnostic du genre* Pseudomonas :

Au colloque annuel de la *Société Française de Microbiologie*, en janvier 1961, MM. Véron et Buttiaux proposaient de réunir dans le genre *Pseudomonas* un certain nombre de germes présentant les caractères suivants :

Quatre d'entre eux sont essentiels ; ils assurent l'identification du genre *Pseudomonas* qui comprendrait ainsi des bactéries :

— *en fins bâtonnets, Gram négatifs, non sporulées, mobiles par ciliature polaire mono ou lophotriche* (rarement immobiles) ;
— *aérobies strictes en gélose profonde sans nitrates ;*
— *cytochrome-oxydase positives ;*
— *catabolisant le glucose par voie oxydative* et transformant certains aldoses en acides aldobioniques correspondants (de rares souches sont inactives sur les glucides).

D'autres caractères sont pratiquement constants : la croissance en milieu synthétique, ammonium-citrate, de Simmons ; la production d'ammoniaque dans les milieux de culture ; l'absence de lysine décarboxylase, de production d'indole ; le catabolisme de l'arginine par une arginine-dihydrolase.

Cette définition permet d'exclure facilement des *Pseudomonas, les entérobactéries :* bactéries péritriches, aéro-anaérobies facultatives, cytochrome oxydase négatives, nitrate réductase positives, attaquant les glucides par voie fermentative, et le groupe des *Vibrions æromonas :* bactéries mono ou lophotriches, aéro-anaérobies facultatives, cytochrome oxydase et nitrate réductase positives, au métabolisme glucidique de type fermentatif.

Le seul diagnostic difficile en fait est celui d'un *Pseudomonas*, inactif sur les glucides, non pigmenté, voire immobile. Les différences qui existent alors avec d'autres bacilles Gram négatifs, aérobies stricts, oxydases positifs, inactifs sur les glucides, peu ou pas mobiles, sont

souvent minimes, et leur diagnostic différentiel repose surtout sur des *critères morphologiques*.

Dans le genre *Alcaligenes*, on élimine facilement l'espèce *Alcaligenes fæcalis* qui ne réduit pas les nitrates. Une de ses variétés par contre, *Alcaligenes denitrificans*, possède une nitrate réductase et, dans ce cas, le seul élément du diagnostic est l'existence d'une ciliature péritriche pauvre.

Le genre *Moraxella* sera plus aisément différencié, car ce sont des bactéries toujours aciliées et immobiles, d'une morphologie en diplobacilles ou en diplocoques et d'une coloration au Gram très particulières, dont le groupe I, qui réduit les nitrates, possède une cytochrome oxydase et n'attaque pas les glucides, est sérophile obligatoire, et le groupe II, non sérophile obligatoire, n'a ni nitrate réductase, ni cytochrome-oxydase.

2° *Le diagnostic différentiel des espèces du genre* Pseudomonas :

Le diagnostic différentiel ne sera envisagé qu'avec les espèces les plus fréquemment rencontrées chez l'homme et qui, dans une certaine mesure, peuvent prêter à confusion avec les deux seules espèces pathogènes pour l'homme : *Pseudomonas æruginosa* et *Pseudomonas pseudomallei*, ou bacille de Witmore, agent de la mélioïdose.

— *Pseudomonas æruginosa* — monotriche ; cultive à 42°C ; nitrate réductase positive (réduction en azote le plus souvent); gélatine rapidement liquéfiée ; lait tournesolé alcalinisé puis peptonisé ; d-arabinose oxydé en un à quatre jours ; réaction restreinte sur gélose au jaune d'œuf ; parfois pathogène expérimentalement pour le lapin et le cobaye, mais seulement à hautes doses ; peut produire de la pyocyanine et de la pyoverdine.

— *Pseudomonas pseudomallei* — mono ou lophotriche ; cultive à 42°C et pas au-dessous de 20°C ; nitrate réductase positive (réductase en nitrites ou en azote); inhibé par les sels biliaires et l'azide de sodium ; protéolytique, lait tournesolé acidifié ; ne produit ni pyocyanine, ni pyoverdine ; très pathogène expérimentalement (cobaye).

— *Pseudomonas fluorescens* — lophotriche ; ne cultive pas à 42°C et souvent pas à 37°C ; nitrate réductase négative le plus souvent ; gélatine liquéfiée ; lait alcalinisé et peptonisé ; d-arabinose non oxydé (ou tardivement); lécithinase positive sur gélose au jaune d'œuf ; non pathogène expérimentalement (lapin, cobaye); peut produire de la pyoverdine, mais jamais de pyocyanine.

— *Pseudomonas putida* — variété non protéolytique et lécithinase négative de l'espèce précédente.

— *Pseudomonas stutzeri* — lophotriche ; culture à 42°C ; nitrate réductase positive avec réductase constante en azote ; non protéolytique ; d-arabinose non oxydé ; non pathogène expérimentalement ; absence constante de pigments. Dissociation des colonies : lisses ou sèches et plissées.

		PSEUDOMONAS				
		Aeruginosa	Fluorescence	Putida	Stutzeri	Pseudomonas Pseudomallei
Morphologie	Ciliature polaire					
	monotriche	+	-	-	-	+
	lophotriche	-	+	+	+	+ ou
Culture	Croissance à 42 °	+	-	-	+	+
	20 °	+	+	+	-	-
	Production pyocyanine	+	-	-	-	-
	pyoverdine	+	+	+	-	-
Caractères métaboliques	Oxydation glucose	+	+	+	+	+
	lactose	-				+
	d-arabinose	+	- (+)	- (+)	- (+)	+
	Réduction des nitrates					
	en nitrites	+	-	-	-	+
	en azote gazeux	++	-	-	+	+
	Protéolyse de la gélatine	+	+	-	-	+
	Lait tournesolé - alcalinisation	+	+	+	+	-
	acidification	-	-	-	-	+
	peptonisation	+	+	-	-	+
	Lécithinase sur gelose au jaune d'oeuf	+	++	-	-	+
Pouvoir pathogène Expérimental	Cobaye - lapin	+ fortes doses	-	-	-	++ faibles doses

TABLEAU III : *Caractères différentiels des espèces principales du genre* Pseudomonas, *isolées chez l'homme*

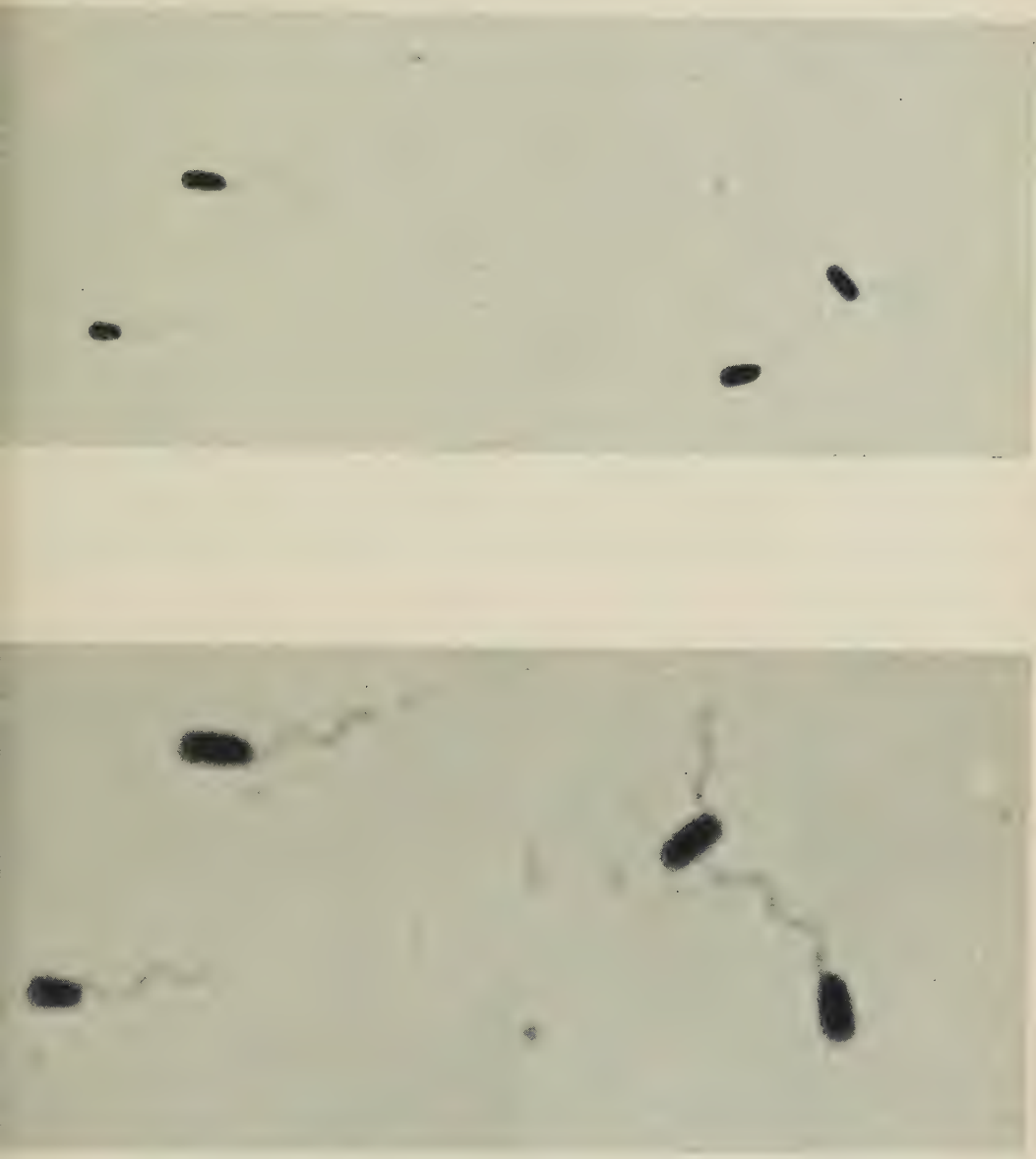
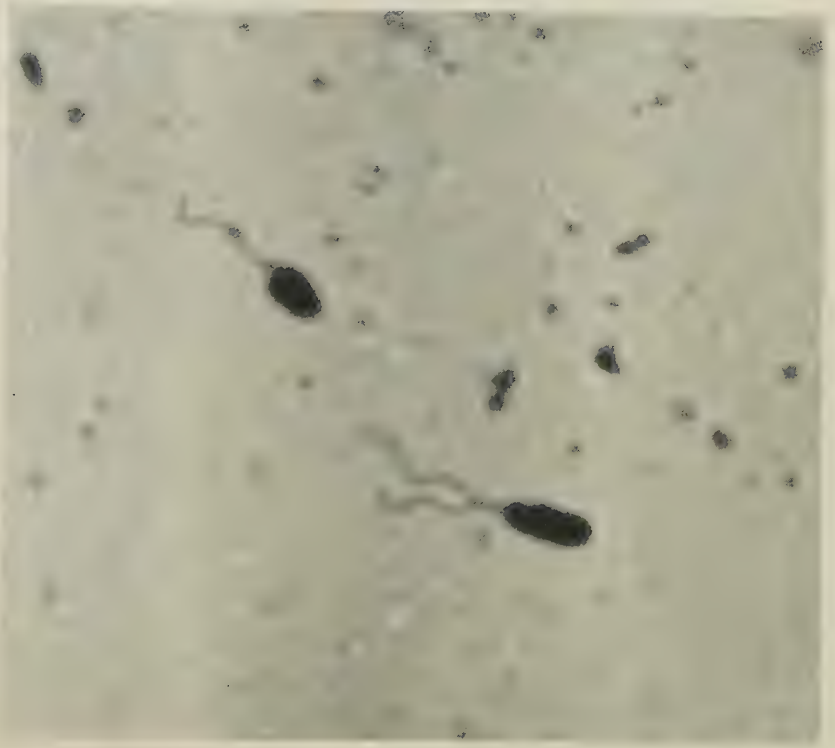


TABLEAU IV : *Coloration du cil de* Pseudomonas æruginosa *par la méthode de Rhodes. Laboratoire de Bactériologie, C.H.U., Caen* (Prof. agrégé C. MOREL)



II. — ETUDE BACTERIOLOGIQUE DE 56 SOUCHES DE " PSEUDOMONAS ÆRUGINOSA "

A) La morphologie

L'étude morphologique de ces bactéries qui apparaissent à la coloration de Gram sous forme de bacilles en bâtonnets, assez fins et Gram négatifs, a été centrée sur l'appréciation de deux de leurs caractères essentiels :

— *La mobilité :* toutes les souches sont apparues nettement mobiles à l'examen de l'état frais entre lame et lamelle ; il s'agissait dans tous les cas de souches fraîchement repiquées, et il n'a pas été constaté, en général, d'inhibition de la mobilité par une substance muqueuse péribacillaire.

— *La ciliature :* la coloration des cils a été effectuée par la méthode de Rhodes, qui consiste à faire agir successivement, sur des frottis soigneusement préparés, le mordant de Rhodes pendant six à huit minutes, puis du nitrate d'argent ammoniacal à chaud pendant cinq minutes.

Dans ces conditions, toutes les souches de *Pseudomonas æruginosa* examinées, issues de cultures de dix à vingt-quatre heures à 30°C, ne présentaient qu'un seul cil polaire. *Cette ciliature polaire monotriche est un élément très important du diagnostic.* De rares formes amphitriches, à ciliature monotriche bipolaire, étaient observées dans les cultures jeunes ; elles correspondent à des formes de prédivision. Quelques aspects de ciliature bifide (cil polaire unique qui se divise en deux à une certaine distance du corps bactérien) étaient irrégulièrement retrouvés sur les préparations, sans qu'il semble s'agir d'un artéfact de coloration.

B) La culture

En bouillon et gélose ordinaires, les caractères de culture des souches de *Pseudomonas æruginosa* étudiées correspondent, dans la majorité des cas, à la description classique. Leur aspect est alors éminemment suggestif ; il n'est cependant pas possible de l'utiliser dans un but taxinomique, car il est sujet à des variations importantes, selon les conditions et les milieux de culture.

Deux éléments dominent ce chapitre :

— *La température d'incubation :* toute l'étude bactériologique de ces 56 souches a été effectuée à la température optima de 30-32°, qui semble favoriser à la fois la croissance bactérienne et son activité enzymatique.

Une épreuve de culture à 42°C (gélose inclinée ensemencée en stries, immergée dans un bain-marie à température constante) a permis d'observer la croissance uniforme et totale de toutes les souches examinées. *Le test de croissance à 42° présente une grande importance pour le diagnostic des* Pseudomonas *pigmentés.*

— *La pigmentation :* la pigmentation a été recherchée préférentiellement sur les milieux A et B de King, largement utilisés maintenant pour les examens de routine.

a) Le milieu A est destiné à favoriser électivement la synthèse de la pyocyanine par *Pseudomonas æruginosa.* La pyocyanine se manifeste en colorant le milieu de culture en bleu (ou en vert si le pigment fluorescent est également synthétisé). De toute façon, par extraction chloroformique, la pyocyanine teinte celui-ci en bleu ; il vire au rouge par adjonction de quelques gouttes d'acide chlorhydrique fort.

	Milieu A de King			Milieu B de King			
	Présence de pyocyanine		Pas de pigments	Présence de pyoverdine		Pas de pigments	Pigment brun noirâtre
	Visible = coloration du milieu de King	douteuse = Extraction chloroformique		Visible = coloration jaune vert fluorescent	douteuse = fluorescence recherchée en lumière de Wood		
	46 = 81 %			51 = 90 %			
Nombre de souches et pourcentage	16 = 28 %	30 = 53 %	10 = 19 %	27 = 48 %	24 = 42 %	4 = 7 %	1

TABLEAU V : *Etude de la production des pigments de 56 souches de* Pseudomonas æruginosa, *sur les milieux de A. et B. King. Laboratoire de Bactériologie, C.H.U. de Caen* (Prof. agrégé C. MOREL)

b) Le milieu B est destiné à favoriser la synthèse de la pyoverdine. Elle se manifeste en colorant le milieu en vert fluorescent ; elle est insoluble dans le chloroforme. Dans tous les cas, la fluorescence a été recherchée en lumière de Wood, en comparant avec un milieu B non ensemencé.

Les résultats observés après deux jours d'incubation à 30°C étaient les suivants :

— 41 souches, soit 73 %, produisaient de la pyocyanine et de la pyoverdine ;

— 4, soit 7 %, n'élaboraient que de la pyocyanine, et 10, soit 17 %, que de la pyoverdine ;

— 1 souche donnait un pigment brun-noir, mais aucune n'était pigmentée dans les conditions de l'expérimentation.

C) Les propriétés métaboliques ou enzymatiques

1) Métabolisme respiratoire

Le métabolisme respiratoire du bacille pyocyanique est très particulier, et l'on a pu retrouver exactement, chez les 56 souches étudiées, ses deux caractères fondamentaux :

— *L'aérobiose stricte :* ensemencée en gélose VF, milieu viande - foie glucosé gélosé (ne contenant donc pas de nitrates), la croissance ne s'effectue qu'à la surface du milieu dans la zone aérobie stricte.

— *La positivité de la recherche de l'oxydase :* sa technique — méthode de Kovacs — consiste à imbiber un papier buvard blanc de quelques gouttes d'une solution aqueuse à 1 pour 100 de chlorhydrate, ou mieux, d'oxalate de N-diméthyl-paraphénylène-diamine, préparée extemporanément, et à y déposer une anse de culture de 18 à 24 heures prélevée sur milieu gélosé. La positivité de la réaction se traduit par l'apparition d'une couleur rouge, due à la formation d'une semi-quinone instable, qui s'oxyde rapidement en un dérivé noirâtre. Toutes les souches se sont avérées cytochrome-oxydase positives.

2) Métabolisme glucidique

Le catabolisme glucidique de *Pseudomonas æruginosa* est typiquement oxydatif, il nécessite l'oxygène de l'air. Son étude a été réalisée sur les milieux MEVAG (Milieu pour l'Etude de la Voie d'Attaque des Glucides, dont nous donnons plus haut les particularités)

qui ont permis à la fois de caractériser le type métabolique du germe par l'épreuve de Hugh et Leifson, et d'étudier son action sur différents glucides.

L'épreuve de Hugh et Leifson consiste à ensemencer, par piqûre centrale, deux tubes de milieux MEVAG contenant 1 pour 100 de glucose, et à recouvrir la surface de l'un d'eux de 1 ml de vaseline stérile. Dans ces conditions, les 56 souches étudiées déterminaient, dès la 24-48e heure, une acidification modérée uniquement dans le tube ouvert (sans vaseline), se traduisant par un virage au jaune du rouge de phénol dans la partie supérieure du milieu.

L'ensemencement, comme précédemment de tubes dits ouverts contenant chacun soit du lactose, soit du d-arabinose, a fourni également des résultats homogènes :

— en 48 heures, le lactose n'est jamais oxydé, le d-arabinose l'est toujours — ce dernier caractère présente d'ailleurs *une importance particulière pour le diagnostic des espèces du genre Pseudomonas.*

L'utilisation du citrate de sodium comme seule source de carbone, sur le milieu synthétique au citrate de Simmons, ensemencé en strie centrale à partir d'une culture prélevée sur milieu gélosé, s'est révélée régulièrement positive en 24 heures pour toutes les souches examinées : culture abondante avec alcalinisation du milieu (bleuissement).

3) Métabolisme protidique

L'étude du métabolisme protidique se résout, dans l'ensemble, à la mise en évidence d'un certain nombre d'enzymes bactériennes — nitrate réductase, gélatinase, décarboxylases, uréase, hémolysine, phosphatases, désoxyribonucléase, désaminases.

a) *La réduction des nitrates :* sa recherche, effectuée à l'aide des deux réactifs classiques, dans une culture de 24 heures en bouillon nutritif additionné de 1 pour 100 de nitrate de potassium, a fourni les résultats suivants :

— 40 des 56 souches donnent une coloration rouge immédiate du bouillon nitraté — donc 71 % des souches réduisent en 24 heures les nitrates jusqu'au stade de nitrites ;

— pour 15 souches, le milieu reste incolore (absente de nitrites) et le demeure malgré l'adjonction d'un réducteur puissant des nitrates : la poudre de zinc (disparition des nitrates); donc 25 % des souches dépassent le stade de nitrites ; des bulles gazeuses dans la culture témoignent d'ailleurs de la production d'azote gazeux ;

— enfin, dans 1 cas, il a été constaté l'absence de toute nitrate réductase, malgré deux recherches successives.

b) *Le pouvoir protéolytique :* la recherche de la protéolyse de la gélatine a été réalisée par la *technique rapide du film photographique*. Elle consiste à placer dans 0,5 ml d'une suspension laiteuse de bactéries en eau physiologique, une languette d'un film photographique (microfile Kodak) préalablement exposé à la lumière puis développé. Celui-ci est formé d'une fine couche de sels d'argent dans de la gélatine, déposée sur un support transparent. En 24 heures, toutes les souches révélaient la présence d'une gélatinase : sédiment de sels d'argent au fond du tube et apparition du support transparent de la partie immergée du film. L'hydrolyse de la caséine du lait tournesolé se traduisait, dès la 24e heure et dans plus de la moitié des cas, par l'apparition d'une alcalinisation — virage au bleu de la surface du milieu — et d'une peptonisation — éclaircissement progressif du milieu — débutant à la surface.

c) *Recherche des décarboxylases de l'arginine, de la lysine, de l'ornithine :* la technique de Moeller a été utilisée. On incorpore, à 5 cm^3 par tube du bouillon de Moeller (Moeller decarboxylase broth base), les trois acides aminés : l-arginine, l-lysine et l-ornithine, à la concentration finale de 1 pour 100 (en vérifiant le pH du milieu qui doit nécessairement être ajusté à 6,3). Après stérilisation des milieux par autoclavage, 10 minutes à 120°C, l'ensemencement est réalisé à partir d'une suspension opalescente de bactéries prélevées sur une culture en gélose de 24 heures, en mettant 5 gouttes par tube ; la surface des milieux est ensuite recouverte de 1 ml d'huile de paraffine stérile.

Le principe de ces milieux, essentiellement adaptés aux entérobactéries, est le suivant : dans un premier temps, les bactéries font fermenter le glucose et le milieu s'acidifie. Dans un deuxième temps, les enzymes actives sur les amino-acides mentionnés, dont l'action est favorisée par un pH acide, forment à partir de ceux-ci des substances alcalines telles que la putrescine à partir de l'ornithine, la cadavérine à partir de la lysine, qui font virer au violet l'indicateur de pH, le bromocrésol pourpre. Donc, une réaction positive est donnée par la coloration violette des tubes, la réaction négative par leur coloration jaune. En ce qui concerne le bacille pyocyanique, on ne peut naturellement pas observer de virage au jaune du tube témoin, puisque son catabolisme glucidique est typiquement oxydatif et que l'on se trouve placé dans des conditions d'anaérobiose. Cependant, l'on a pu constater, après

	Réduction des Nitrates		Pas de réduction des nitrates
	en Nitrites	en Azote gazeux	
Nombre de souches	40	15	1
Pourcentage	71 %	27 %	2 %

TABLEAU VI : *Recherche de la réduction des nitrates, en bouillon nutritif à 1 % de nitrate de potassium, chez 56 souches de* Pseudomonas æruginosa. *Laboratoire de Bactériologie, C.H.U. de Caen* (Prof. agrégé C. MOREL)

Nombre de souches	en 24 heures		en 48 heures	
	+	-	+	-
Alcalinisation	49	7	54	2
Peptonisation	37	19	45	11

TABLEAU VII : *Etude de l'alcalinisation et de la peptonisation du lait tournesolé chez 56 souches de* Pseudomonas æruginosa. *Laboratoire de Bactériologie, C.H.U. de Caen* (Prof. agrégé C. MOREL)

24 heures d'incubation à 30°C, et pour l'ensemble des souches de *Pseudomonas æruginosa* examinées :

— d'une part, *la positivité de la recherche de l'arginine dihydrolase,* dont témoignaient la culture et le virage net au violet des tubes correspondants ;

— d'autre part, l'absence de lysine et d'ornithine décarboxylase, dont les milieux avaient permis la croissance microbienne, mais étaient demeurés strictement de la même couleur que les témoins, sans amino-acide.

d) *La production d'indole,* en eau peptonée ou dans le milieu « urée-indole », recherchée à l'aide du réactif de Kovacs, s'est avérée constamment négative.

c) *La recherche de l'uréase :* cette enzyme inductible n'est classiquement pas révélée dans le milieu synthétique liquide, « urée-indole », utilisé pour les entérobactéries : milieu de Fergusson modifié par Roland (addition de tryptophane). Cependant, en réalisant une suspension dense, de culture prélevée sur gélose, dans quelques gouttes du milieu, et après 24 heures d'incubation à 30°C, on a pu observer, dans deux cas, une alcalinisation franche du milieu qui prenait une teinte rouge acajou intense.

Par ailleurs, la recherche de la tryptophane désaminase, sur ce milieu, par le perchlorure de fer officinal dilué au 1/3, s'est avéré constamment négative.

Sur le milieu non synthétique gélosé de Christensen par contre, l'ensemble des souches a donné une alcalinisation rapide et franche du milieu qui prenait une teinte rosée, alors que la couleur des tubes témoins restait inchangée.

f) *La présence d'hémolysine :* le pouvoir hémolytique des 56 souches de *Pseudomonas æruginosa* a été étudié sur gélose nutritive à 5 pour 100 de sang défibriné de cheval, ensemencée en touches, représentant chacune une anse de culture en bouillon de 24 heures du germe.

L'examen des cultures, au bout de 24 et 48 heures, a permis de préciser les caractères des hémolyses observées : leur type, hémolyse totale, clarifiant complètement la gélose, ou partielle, la laissant légèrement opalescente ; leur taille : hémolyse circonscrivant la zone de culture (4 à 5 mm) ou la débordant largement ; l'aspect des bords, soits nets et réguliers, soit flous ou irréguliers.

Ainsi en 48 heures la majorité des souches examinées est hémolytique ; il s'agit habituellement d'une hémolyse totale, bien limitée, débordant le plus souvent la colonie.

Durée Incubation	Nombre de souches en valeur absolue et en pourcentage, présentant ou non une hémolyse	CARACTERES de l'HEMOLYSE					
		Type		Taille		Aspect des bords	
		Totale	partiel	4 à 5 mm	7 mm	net	flou
24 H.	Hémolyse + 21 = 38 %	16 =28%	5 = 8 %	9	12		
	Hémolyse - 35 = 62 %						
48 h	Hémolyse + 41 = 73 %	32 = 57%		19	12	23	7
			9 = 16 %	8	1	3	4
	Hémolyse - 15 = 26 %						

TABLEAU VIII : *Etude des caractères de l'hémolyse sur gélose au sang, de 56 souches de* Pseudomonas æruginosa. *Laboratoire de Bactériologie au C.H.U. de Caen* (Prof. agrégé C. MOREL)

g) *La recherche d'autres enzymes du métabolisme protidique :*

— *Recherche de la phosphatase par la technique de Bazille et Pantaléon :* cette technique utilise les réactifs du dosage de la phosphatase acide du sérum. Il suffit tout d'abord de suspendre 1 comprimé de « phosphatabs acid substrate » (alpha-naphtyl-phosphate acide sodique) dans 0,5 ml d'eau distillée, et d'y dissocier une anse de culture de 24 heures sur milieu gélosé. Après 20 minutes au bain-marie à 30°C, on ajoute un comprimé de « phosphatabs acid color developper » que l'on écrase (orthodianisidine bisdiazotée). Dans ces conditions, avec une souche témoin de staphylocoque « bactériologiquement pathogène », apparaissait, en quelques minutes, une réaction positive se traduisant par un virage immédiat au rouge acajou intense,

fugace, puis par l'apparition d'un précipité, brun rougeâtre et stable. Aucune des souches de *Pseudomonas æruginosa* étudiées n'a donné de réaction positive.

En procédant de façon identique, mais en utilisant cette fois les réactifs de la recherche de la phosphatase alcaline du sérum — substrat : comprimés de phénophtaléine phosphate tamponné; révélateur : solution d'hydroxyde de sodium —, 9 pour 100 environ des souches de *Pseudomonas æruginosa* ont donné *une réaction faiblement positive.*

— *Recherche de la désoxyribonucléase :* la technique consiste à couler dans une boîte de Pétri 25 ml de gélose spéciale contenant de l'acide désoxyribonucléique et à y ensemencer, par points, les différentes souches étudiées. Après 24 heures à 30°C, on inonde la boîte avec une solution d'acide chlorhydrique N. Au bout de dix minutes, la souche test de staphylocoque pathogène précédemment citée donnait une réaction positive, se traduisant par la présence d'une zone claire autour de la colonie, le reste de la boîte restant opaque. Toutes les souches de *Pseudomonas æruginosa* examinées donnaient une réaction négative.

4) Métabolisme lipidique

Recherche de la lipase :

Après avoir incorporé 1 pour 100 de Tween 80 à une gélose de base spécialement préparée à cet effet, les germes sont ensemencés en touches de 5 mm de diamètre environ. En 24 heures, une souche de *Serratia* utilisée comme témoin donnait une réaction positive, se traduisant par la présence d'un halo opaque autour des colonies dû à la précipitation des acides gras. Aucun pyocyanique n'a donné de réaction positive.

Recherche de la lécithinase :

Pour préparer une gélose au jaune d'œuf, on incorpore à 20 ml de gélose nutritive fondue et maintenue en surfusion à 45-50°, 2 ml d'une suspension de jaune d'œuf en eau physiologique ; le tout coulé en boîte de Pétri et les souches sont ensemencées par points.

Aucun des pyocyaniques étudiés n'a donné de réaction positive, marquée par l'apparition d'une large zone opaque autour de la colonie. Le plus souvent, on notait une réaction « restreinte », caractérisée par l'existence d'une petite zone opaque, ne dépassant pas les limites de la colonie et apparaissant en l'enlevant par raclage de la surface

de la gélose ; cette action semble liée, elle aussi, à la présence d'une lécithinase, mais qui diffuserait plus difficilement dans la gélose.

La recherche de la lécithinase est importante pour le diagnostic différentiel des espèces du genre Pseudomonas.

Cette étude de 56 souches de *Pseudomonas æruginosa* a été plus précisément orientée pour retrouver les caractères les plus constants de la bactérie. On peut voir qu'ils correspondent assez exactement, d'une part à la définition du genre *Pseudomonas,* donnée par MM. Véron et Buttiaux, et d'autre part, aux caractères différentiels essentiels des espèces principales, pathogènes ou non, rencontrées chez l'homme.

Ce travail est bien incomplet sur le plan bactériologique pur ; il y manque deux chapitres essentiels, ceux de l'étude des caractères antigéniques et du pouvoir pathogène expérimental du bacille pyocyanique. Mais nous avons voulu le situer sur un plan plus pratique : celui du diagnostic de *Pseudomonas æruginosa* au laboratoire.

CHAPITRE III

TRAITEMENT

I. — PROPHYLAXIE DES INFECTIONS A " PSEUDOMONAS ÆRUGINOSA "

Les infections à pyocyanique sévissent surtout par petites épidémies hospitalières, et nous avons vu au début de ce travail quelles étaient les conditions étiologiques responsables de la fréquence actuelle de ces infections. Ces considérations montrent bien de quelle façon doit être entreprise la prophylaxie.

Il est essentiel avant tout de maintenir les règles les plus rigoureuses d'asepsie dans tous les actes médicaux ou chirurgicaux et de proscrire l'antibiothérapie systématique « de couverture » lorsqu'elle est injustifiée ou trop prolongée ; l'excès de celle-ci a d'ailleurs sûrement contribué au relâchement de l'asepsie classique.

L'application stricte des règles d'hygiène hospitalière permettra de protéger les sujets exposés de la contamination par le pyocyanique :

— Les manœuvres instrumentales, cathétérismes, explorations endoscopiques seront effectués avec des précautions quasi chirurgicales ; la publication maintenant classique de septicémies à pyocyanique après la pose d'un cathéter intra-veineux ou de méningites après ponction lombaire, souligne bien que même ces thérapeutiques banales doivent être faites avec une asepsie rigoureuse.

— Il convient d'insister sur les précautions rigoureuses qui doivent entourer le prélèvement des solutions médicamenteuses, lors des injections parentérales, notamment intra-veineuses. Outre la désinfection soigneuse des mains de l'opérateur, du bouchon du flacon, il faut éviter, lors de la brusque aspiration d'air créée par la dépression subite, d'introduire des germes dans le flacon, en

recouvrant l'extrémité libre de l'aiguille d'une compresse de gaze stérile ; ce détail s'avère d'autant plus important que le pyocyanique peut être retrouvé dans l'air ambiant et qu'il peut survivre dans un grand nombre de solutions antibiotiques.

— Le matériel sera soigneusement stérilisé à l'autoclave. Il faut souligner, à ce sujet, deux points importants : le matériel en caoutchouc — cathéters, sondes, etc. —, toujours difficile à stériliser correctement, peut parfois être favorablement remplacé par des éléments en plastique ne servant qu'à un seul usage ; d'autre part, les antiseptiques à base d'ammonium quaternaire perdent leur pouvoir antibactérien lorsqu'ils sont en contact avec la cellulose ; or, ne voit-on jamais des instruments maintenus par du coton hydrophile dans ces solutions désinfectantes ?

— Chez les malades qui nécessitent des soins et des pansements fréquents, il convient de ne pas multiplier et de ne pas changer trop souvent le personnel qui s'en occupe.

Dans une étude sur les moyens de lutte contre l'hospitalisme, Vic-Dupont, Monsallier et Amstutz indiquent que les deux modes principaux de propagation de l'infection (contact direct et voie aérienne) peuvent être combattus par des règles générales dont voici l'essentiel :

a) Limitation des allées et venues du personnel soignant et des visiteurs, changement de blouse et de tablier du personnel, port d'un masque par les sujets présentant une infection rhino-pharyngée.

b) Désinfection des mains du personnel (lavage soigneux à l'eau et au savon avec brossage des ongles, puis désinfection par un dérivé mercuriel), particulièrement avant l'utilisation de sondes trachéales ou uréthrales et avant toutes ponctions veineuses, artérielles, pleurales ou lombaires.

c) Désinfection des locaux entre chaque malade par la nébulisation de solutions antiseptiques, comme l'oxybenzoate de paraisopropylmétacrésol ; pendant le séjour du malade, la chose est plus difficile, car la nébulisation entraîne une humidité permanente des murs et de la literie.

La prophylaxie de l'infection hospitalière à pyocyanique reste le seul moyen efficace de parvenir à son éradication.

II. — TRAITEMENT ET ANTIBIOTIQUES

A) Médications antibactériennes

LES ANTISEPTIQUES ET LES SULFAMIDES

Les classiques solutions antiseptiques d'acide borique, de Dakin ou de teinture d'iode sont toujours utiles dans le traitement des infections cutanées.

In vitro, plusieurs substances sont actives sur *Pseudomonas æruginosa* : ce sont l'adiazine, le nibiol et surtout l'acide nalidixique ou négram. Classiquement, 59 % des souches de pyocyanique sont sensibles au négram ; cependant, nous avons pu observer sur l'antibiogramme des 56 souches dont nous disposions, 16 souches résistantes, 38 intermédiaires et seulement 2 sensibles.

Au vu des publications concernant l'utilisation des sulfamides dans la lutte contre le pyocyanique, il semble qu'ils constituent une médication d'appoint intéressante, surtout associée aux antibiotiques majeurs et dans les localisations urinaires de l'infection à pyocyanique.

LES ANTIBIOTIQUES

I) Méthodes d'étude de la sensibilité aux antibiotiques de 56 souches de " Pseudomonas æruginosa "

1) Antibiogramme par la méthode des disques

Sa réalisation exige de respecter un certain nombre de conditions techniques. Des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre contenant 25 ml de milieu standard Institut Pasteur pour épreuve de la sensibilité microbienne aux antibiotiques sont ensemencées par inondation, à l'aide d'une dilution de 1/1.000e à 1/10.000e en eau distillée de cultures pures prélevées sur gélose ; on dépose à la surface de la gélose, préalablement séchée 20 minutes à 37°, des disques d'antibiotiques de concentration connue.

La lecture semi-quantitative des résultats est effectuée après 24 heures à 30°C, à l'aide des graphiques et diamètres critiques de

chaque antibiotique établis pour les conditions techniques exposées. On définit alors :

— *souche sensible,* une souche donnant une zone d'inhibition supérieure ou égale au plus grand diamètre critique de l'antibiotique. C'est une souche qui peut être atteinte par un traitement à dose habituelle par voie générale ;

— *souche résistante,* une souche dont la zone d'inhibition est inférieure au petit diamètre critique ; elle ne répondra probablement pas au traitement ;

	SOUCHES DE PSEUDOMONAS AERUGINOSA					
	Sensibles		Intermédiaires		Résistantes	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
Céphalothine	0	0	0	0	56	100
Streptomycine	4	7	19	34	33	59
Néomycine	0	0	10	18	46	82
Framycétine	0	0	16	29	40	71
Kanamycine	0	0	3	5	53	95
Gentamycine	44	79	9	16	3	5
Tétracycline	0	0	2	4	54	96
Oxytétracycline	0	0	5	10	51	90
Chlortétracycline	0	0	1	2	55	98
Chloramphénicol	4	7	33	59	19	34
Thiophénicol	6	11	44	78	6	11
Colimycine	51	90	5	10	0	0
Polymyxine B	49	88	7	12	0	0
Bacitracine	0	0	0	0	56	100
Novobiocine	0	0	3	5	53	95
Acide Nalidixique	2	4	38	67	16	29

TABLEAU IX : *Antibiogramme de 56 souches de* Pseudomonas æruginosa *par la méthode des disques. Laboratoire de Bactériologie, C.H.U. de Caen* (Prof. agrégé C. MOREL)

— *souche intermédiaire,* une souche donnant une zone d'inhibition comprise entre les deux diamètres critiques ; c'est une souche qui peut être atteinte par un traitement local, par une augmentation des doses par voie générale, ou par une concentration physiologique particulière (urines, liquide céphalo-rachidien).

2) Détermination de la concentration minima inhibitrice (CMI) de la colimycine par la méthode de dilution en milieu gélosé

Cette méthode consiste à incorporer à 18 ml de gélose trypticase-soja, maintenue en surfusion à 45-50°C, 2 ml des différentes dilutions de colimycine, pour obtenir des concentrations finales de 25, 12,5, 6,2, 3,1 et 1,5 mcg/ml. On coule en boîtes de Pétri et on fait sécher 30 minutes à l'étuve. L'ensemencement des différentes souches se fait, sous forme d'une strie, à partir de dilutions au 1/1.000e en eau distillée de cultures en bouillon de 18 à 24 heures.

Après 24 heures à 30°C, on note la première concentration qui inhibe complètement la croissance (CM1).

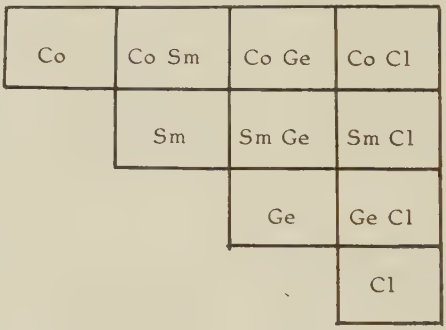
3) Etude du pouvoir bactéricide de la strepomycine (Sm), de la gentamycine (Ge), de la colimycine (Co), du chloramphénicol (Cl) et de leurs associations, par détermination du pourcentage de survivants en milieu liquide

Cette technique comprend trois temps successifs :

a) On ensemence 50 ml de bouillon spécial, pour étude de la sensibilité des germes aux antibiotiques, avec 0,50 ml d'une culture de 24 heures du pyocyanique étudié. Puis :
— on réalise des dilutions du bouillon au 1/10e, 1/100e, 1/1.000e et 1/10.000e que l'on ensemence par stries de 5 cm à la surface d'une gélose bien sèche coulée en boîte de Pétri. Ce témoin permet de numérer le bouillon ;
— on répartit 2 ml du bouillon pur dans 10 tubes à hémolyse contenant les antibiotiques à la concentration de 12,5 mcg/ml pour la colimycine, de 10 mcg/ml pour la gentamycine, de 15 mcg/ml pour le chloramphénicol, et de 10 mcg/ml pour la streptomycine, suivant le schéma ci-dessous.

b) Après 24 heures à 30°C de « contact » entre les germes et l'antibiotique, une anse de chaque petit tube est étalée en une strie

de 5 cm à la surface d'une gélose coulée en boîte de Pétri ; on met à l'étuve. La boîte témoin, par contre, est sortie de l'étuve et placée à + 4°C.



c) Le lendemain, les survivants se sont développés sur les stries d'ensemencement et l'on peut comparer leur densité avec celle des stries obtenues la veille sur la boîte témoin. Si la densité des colonies est égale à celle obtenue avec :

	% survivants	*Effet bactéricide*
— le bouillon pur	100 %	0,01 %
— » dilué au 1/10e	10 %	0,1 %
— » » 1/100e	1 %	1 %
— » » 1/1.000e ...	0,1 %	10 %
— » » 1/10.000e ..	0,01 %	100 %

II) Sensibilité de " Pseudomonas æruginosa " aux antibiotiques

Nous classerons les antibiotiques selon leur mécanisme d'action antibactérienne.

1) Antibiotiques actifs sur la paroi bactérienne par :

— Inhibition de sa croissance en longueur : toutes les souches de *Pseudomonas æruginosa* étudiées se sont avérées, sur l'antibiogramme, résistante à la novobiocine et à la bacitracine.

— Inhibition de sa croissance en épaisseur : dans le groupe des bêta-lactamines, la céphalothine s'est montrée totalement inactive sur le bacille pyocyanique aux concentrations accessibles en clinique.

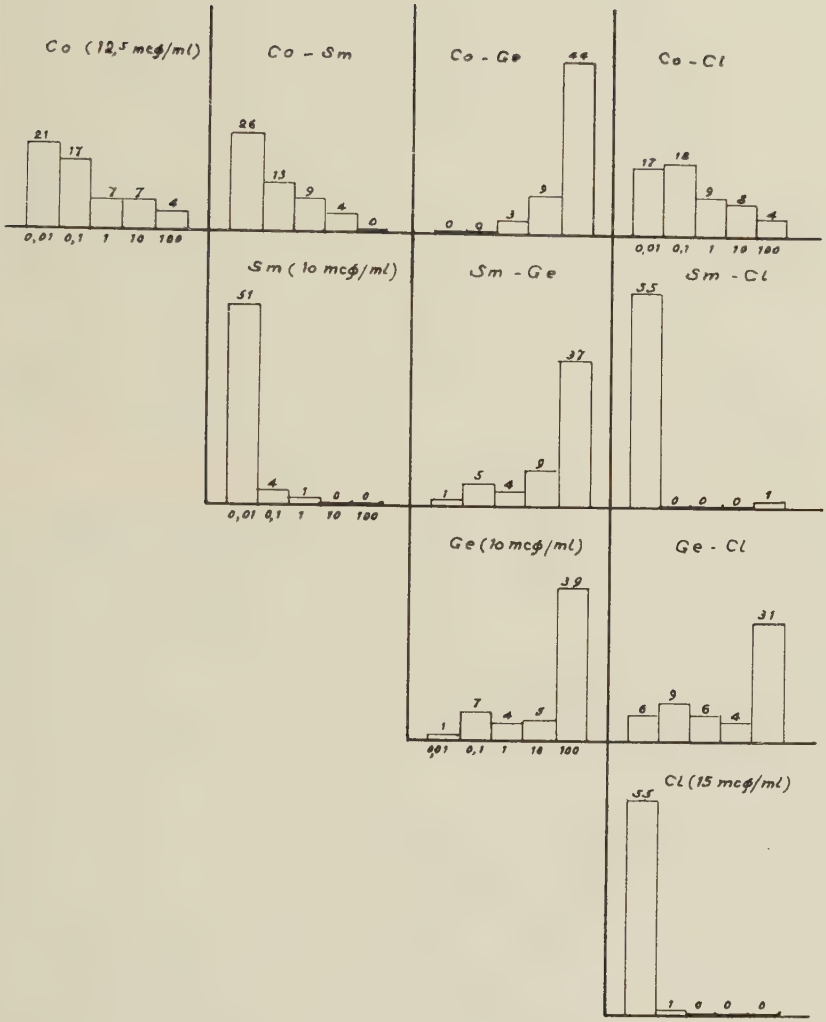


TABLEAU X : *Etude du pouvoir bactéricide de la streptomycine, gentamycine, colimycine, du chloramphénicol et de leurs associations sur 56 souches de* Pseudomonas æruginosa. *Laboratoire de Bactériologie, C.H.U. de Caen* (Prof. agrégé C. MOREL)

2) Antibiotiques actifs sur la membrane bactérienne :

Ce sont les deux antibiotiques majeurs de l'infection à pyocyanique. Appartenant à la famille des antibiotiques polypeptidiques, la colimycine et la polymyxine B ont une action bactéricide qui s'apparente à celle des détergents cationiques à base d'ammonium quaternaire. En augmentant la perméabilité de la membrane bactérienne, ils provoquent la fuite des constituants cellulaires, particulièrement des purines et des pyrimidines, dans le milieu ambiant ; les bactéries sont rapidement lysées à l'encontre des antibiotiques à large spectre dont l'action bactéricide demande plusieurs heures, voire plusieurs jours.

Bosko Postic note, en 1961, que la polymyxine B et la colimycine sont les antibiotiques les plus actifs sur 170 souches de bacilles pyocyaniques : la plupart des souches sont inhibées par 12,5 mcg/ml ou moins de ces deux antibiotiques, alors qu'il faut des concentrations au moins égales à 50 mcg/ml des autres antibiotiques actifs pour obtenir des résultats analogues.

• La colistine est l'antibiotique de choix

a) Extraite des filtrats de culture d'*Ærobacillus colistinus,* la colistine est un acyl-peptide utilisé en thérapeutique (colimycine) sous forme de sulfate de colistine par voie orale et de méthane sulfonate par voie parentérale.

— Son activité est titrée en unités, définie comme la concentration minima capable d'inhiber le développement d'une souche standard d'*Escherichia coli* N.I.H.J. dans 1 ml de bouillon à pH 7,2. 1 mg de sulfate de colistine = 20.000 unités et 1 mg de méthane-sulfonate de colistine = 12.500 unités.

— *Sa diffusion dans les tissus :* la résorption intestinale de la colistine est presque nulle et le traitement *per os* est réservé aux infections intestinales à pyocyanique.

L'injection sous-cutanée ou intra-musculaire de 2 et 5 mg/kg de méthane-sulfonate de colistine détermine, entre 30 et 60 minutes, une élévation de la concentration sanguine qui atteint respectivement 15 et 25 mcg/ml ; ce taux sanguin se maintient pendant 5 à 6 heures, puis s'abaisse en un temps équivalent. La colistine traverse la barrière hémo-méningée et peut atteindre le tiers ou la moitié du taux sanguin dans le liquide céphalo-rachidien ; mais, lorsque les méninges sont le siège d'un état inflammatoire, la colistinorachie peut égaler la colistinémie. Les concentrations pulmonaires ne sont bonnes que dans le parenchyme, car dans le mucus et l'expectoration elles apparaissent nettement plus faibles. L'élimination urinaire est lente : le taux de l'antibiotique atteint 300 mcg/ml 3 à 4 heures après l'injection et se prolonge au-delà de la douzième heure.

Un élément important peut limiter l'action de la colistine au niveau des tissus. En effet, de même qu'elle s'adsorbe sur les membranes des bactéries avant de les lyser, une fraction importante de l'antibiotique peut, par un mécanisme analogue, se fixer sur les innombrables membranes cellulaires rencontrées dans les suppurations urinaires ou trachéo-bronchiques ; or, seule la partie libre est bactériologiquement active.

— *La toxicité de la colistine est faible :* la toxicité aiguë déterminée chez la souris par voie veineuse donne une dose léthale 50 de 650 mg/kg .Y. Chabbert), de valeur tellement éloignée de la dose thérapeutique que l'on peut considérer comme minime la toxicité aiguë en clinique.

D'ailleurs, elle a été administrée en perfusions intra-veineuses dans un cas de médiastinite à pyocyanique, à des doses aussi importantes que 30 millions d'unités par jour, pendant quinze jours, sans autre inconvénient que des arthralgies passagères (Mercadier et Jacquin).

Cependant G. Richet, R. Ardailloux et Y. Sultan ont signalé trois cas de troubles neuropsychiques graves, apparus 24 heures après l'administration de 6 millions d'unités de méthane-sulfonate de colistine à des sujets en insuffisance rénale chronique. Les troubles ont cessé avec l'arrêt de l'antibiotique et il s'agirait d'une susceptibilité particulière à ce produit des malades en urémie chronique.

b) *La sensibilité de* Pseudomonas æruginosa *au méthane-sulfonate de colistine* peut être appréciée *in vitro* par l'étude de son effet bactériostatique et bactéricide.

— *Appréciation de l'effet bactériostatique :* la bactériostase se définit comme une atteinte de la croissance bactérienne telle que le nombre de bactéries formées est inférieur à celui de la croissance totale sans antibiotique, mais supérieur ou égal au nombre de bactéries ensemencées. On peut l'étudier de deux façons :

— l'antibiogramme s'adapte mal aux antibiotiques polypeptidiques qui diffusent lentement en gélose. On considère cependant qu'une zone d'inhibition supérieure à 14-15 mm indique une souche sensible, et nous avons retrouvé sur 56 souches de *Pseudomonas æruginosa,* 51 souches sensibles, soit environ 90 % ;
— la méthode de la dilution en milieu liquide permet seule une appréciation correcte de l'effet bactériostatique, par détermination de la concentration minima inhibitrice (C.M.I.), première concentration de colistine méthane-sulfonate inhibant complètement la croissance bactérienne.

Sur les 56 souches de *Pseudomonas æruginosa* étudiées :

— 3 souches	avaient une	C.M.I. de	3,1 mcg/ml
— 34, soit 60 %	»	»	6,2 »
— 17, » 30 %	»	»	12,5 »
— 2 souches	»	»	25 »

La dose thérapeutique habituelle par voie parentérale : 50.000 unités par kg par jour, donne une concentration sanguine maxima d'environ 20 à 25 mcg/ml ; on peut en déduire que, théoriquement et dans les meilleures conditions, toutes les souches de pyocyaniques ont leur croissance inhibée par cette concentration.

— *Appréciation de l'effet bactéricide :* la bactéricidie ou « mort accélérée des bactéries conduisant à un nombre de germes inférieur à l'inoculum », s'étudie par la détermination du pourcentage de survivants en milieu liquide. Nous avons pu en tirer deux notions importantes :

1° A la concentration bactériostatique de 12,5 mcg/ml, on note plus de 10 % de survivants chez 38 souches (68 %) et plus de 10 % d'effet bactéricide dans 11 cas seulement (19 %). Ceci signifie simplement qu'aux doses thérapeutiques habituelles, la colistine est peu bactéricide pour *Pseudomonas æruginosa,* et qu'il convient *d'utiliser des doses massives* (100.000 à 150.000 unités par kg et par jour) pour donner le maximum d'efficacité au traitement.

2° Il existe, dans les conditions de l'expérimentation, une synergie entre la colistine et la gentamycine, puisque l'on relève un effet bactéricide supérieur à 10 % :

— dans 11 cas pour la colistine = 19 % ;
— dans 42 cas pour gentamycine = 75 % ;
— dans 52 cas pour leur association = 91 %.

— *Résistance :* Takigami souligne que *Pseudomonas æruginosa* acquiert facilement une résistance à la colistine *in vitro,* mais qu'elle est instable et disparaît rapidement. Il en est peut-être de même *in vivo,* car il ne semble pas y avoir eu d'évolution des souches de pyocyanique vers la résistance depuis l'introduction de l'antibiotique.

Enfin, il existe une résistance croisée complète avec la polymyxine.

• La polymyxine

Produite par le *Bacillus polymyxa,* la polymyxine B, utilisée en thérapeutique sous forme de sulfate, exerce une action bactéricide sur le pyocyanique légèrement supérieure à celle de la colimycine ; mais

sa double toxicité pour le rein et le système nerveux rend son utilisation malaisée par voie parentérale ou intra-rachidienne et doit limiter les indications aux traitements locaux. Cependant, des associations synergiques, polymyxine-tétracycline ou polymyxine-terramycine, permettraient de diminuer de moitié les doses de polymyxine B.

La polymyxine B peut être utilisée avec succès par voie orale dans le traitement des entérites à pyocyanique (elle n'est pas absorbée par la muqueuse intestinale), en injections locales dans le traitement des pleurésies, d'arthrites, de sinusites, d'otites, sous forme de collyres, d'aérosols, et enfin dans le traitement des plaies infectées ou des brûlures.

3) Antibiotiques agissant au niveau des ribosomes :

1° Antibiotiques inhibant la lecture de l'information génétique venant du noyau : *les oligosaccharides.*

Les résultats de la méthode des disques rendent compte d'une résistance presque complète des souches de pyocyanique aux oligosaccharides classiques. On constate, en effet, sur les 56 souches étudiées :

— 4 souches seulement sensibles à la streptomycine, 19 (34 %) intermédiaires et 33 souches (59 %) résistantes ;

— aucune souche n'est inhibée par la néomycine, la framycétine ou la kanamycine, pour lesquelles on trouve respectivement 82 %, 71 % et 95 % de souches résistantes.

L'introduction récente dans l'arsenal thérapeutique d'un nouvel oligosaccharide, *la gentamycine* (ou garamycine), autorise quelques espoirs.

L'étude comparée de son effet bactériostatique — 79 % de souches sensibles, 16 % d'intermédiaires, 5 % de résistantes — et de son effet bactéricide : plus de 78 % des souches donnent 0,1 % et moins de survivants, tandis que 14 % en donnent 10 % et plus, permet de penser que la concentration minima inhibitrice est assez proche de la concentration minima bactéricide.

Cependant, on peut supposer que la gentamycine possède aussi les quelques propriétés des oligosaccharides limitant l'utilisation de l'antibiotique *in vivo* :

— la toxicité, non négligeable, pour le rein et le système nerveux ;

— la fixation protéique, qui peut atteindre dans le sang 30 % de la concentration sérique totale, et qui peut être tout aussi importante dans les suppurations. Les oligosaccharides s'adsorbent, en effet,

sur les colloïdes électro-négatifs et en particulier les acides nucléiques ; dans les suppurations, la lyse des polynucléaires libère une grande quantité d'acide ribonucléique qui peut alors fixer une fraction importante de l'antibiotique ; on a pu montrer que cette liaison était rompue par la ribonucléase ;

— l'augmentation progressive du pourcentage de souches résistantes.

2° Antibiotiques bloquant le transfert des acides aminés vers les ribosomes : *le chloramphénicol et le thiophénicol.*

Peu de souches sont sensibles à ces deux antibiotiques : 4 au chloramphénicol, 6 au thiophénicol. Il faut ajouter qu'un grand nombre de souches apparaissent de sensibilité intermédiaire sur l'antibiogramme : 59 % pour le premier et 78 % pour le second.

3° Antibiotiques inhibant directement la synthèse des protéines au niveau des ribosomes : *les tétracyclines.*

Aucun des 56 souches dont nous disposions n'est apparue sensible *in vitro* à la tétracycline, l'oxytétracycline ou la chlortétracycline.

B) Les autres moyens thérapeutiques

Le bactériophage, adapté à la souche de pyocyanique isolée du malade, semble efficace en usage local et par voie orale ; son administration par voie parentérale est choquante (même lorsqu'il est en suspension sérique) et son efficacité douteuse.

Certaines médications symptomatiques peuvent venir compléter le traitement antibiotique de base :

— La correction des perturbations biologiques fréquemment retrouvées sur ces terrains débilités.

— La prévention et le traitement du collapsus cardio-vasculaire.

— L'administration de gamma-globulines qui, chez l'animal, ont un pouvoir protecteur vis-à-vis du pyocyanique.

— L'utilisation de la corticothérapie pour son triple rôle, dans l'inhibition des réactions inflammatoires et sensibilisatrices de l'organisme, dans la lutte contre les produits toxiques libérés par la lyse microbienne, et enfin, dans le mordançage des antibiotiques.

Le traitement de l'infection à pyocyanique est toujours de longue durée et difficile à conduire en raison des complications, de la résistance du germe et de l'efficacité relative des produits actifs *in vivo*. Aussi doit-on encore insister sur l'importance des mesures prophylactiques qui ont été exposées au début de ce chapitre.

CONCLUSION

I. — Véritable rançon des progrès de la médecine moderne, l'hospitalisme du pyocyanique s'affirme progressivement au cours des années.

Les infections superficielles cutanéo-muqueuses *ne posent pas de problèmes majeurs*. Elles sont souvent accessibles aux antiseptiques et aux antibiotiques par voie locale. L'évolution passe quelquefois à la chronicité, mais le pronostic vital n'est jamais engagé.

Les infections profondes, moins fréquentes, sont toujours graves.

— *La septicémie en est de loin l'aspect le plus redoutable*. L'intensité des signes généraux, l'ecthyma gangréneux de Ehlers et la présence d'un foyer initial à pyocyanique peuvent faire suspecter le diagnostic. Le pronostic est dominé par la fréquence et la gravité du collapsus cardio-vasculaire par choc vasomoteur endotoxémique ; souvent mortel, sa prévention exige une surveillance étroite de la tension artérielle.

— Les autres localisations infectieuses, urinaires et respiratoires — très fréquentes —, méningées — rares mais graves —, et gastro-intestinales *engagent constamment le pronostic vital* pour trois raisons principales : elles surviennent presque exclusivement sur des terrains très débilités ; même dans les localisations mineures ou les formes chroniques, le risque d'une dissémination sanguine n'est jamais exclu ; enfin, l'efficacité de l'antibiothérapie spécifique ne correspond pas toujours aux espoirs formulés *in vitro*.

II. — Les progrès réalisés dans la connaissance de la biologie du bacille pyocyanique permettent aujourd'hui d'en donner une meilleure définition bactériologique.

— *Appartenant au genre Pseudomonas, c'est un fin bacille Gram négatif, non sporulé, mobile par ciliature polaire, aérobie strict sur gélose V.F., cytochrome-oxydase positif et catabolisant le*

glucose par voie oxydative. Le plus souvent, il est aussi arginine dihydrolase et citrate de Simmons positif, lysine décarboxylase et indole négatif, et produit de l'ammoniaque dans les milieux de culture.

— L'identification de l'espèce *æruginosa* repose sur les critères suivants : *ciliature monotriche, culture à 42° ; nitrates réduits en nitrites et plus souvent en azote ; gélatine rapidement liquéfiée ;* lait tournesolé alcalinisé puis peptonisé : *d-arabinose oxydé en un à quatre jours ;* réaction restreinte sur gélose au jaune d'œuf ; parfois pathogène expérimentalement pour le cobaye ou le lapin, mais seulement à hautes doses ; peut produire de la pyocyanine et de la pyoverdine.

III. — La complexité des problèmes thérapeutiques et prophylactiques posés par l'infection à pyocyanique est à la mesure de son pronostic qui reste encore relativement sévère : 80 pour 100 de mortalité dans les septicémies et les méningites.

• Les mesures prophylactiques essentielles consistent à proscrire l'antibiothérapie systématique « de couverture », prolongée et injustifiée, à remettre en vigueur les mesures les plus rigoureuses d'asepsie dans tous les actes médicaux ou chirurgicaux, et à assurer la protection des sujets exposés par *l'application stricte des règles d'hygiène hospitalière.*

Un détail important doit être signalé : les antiseptiques du type ammonium quaternaire perdent leur pouvoir antibactérien lorsqu'ils sont en contact avec la cellulose.

• L'antibiothérapie du pyocyanique

1° Parmi les antibiotiques classiques, seuls sont réellement actifs deux antibiotiques polypeptidiques : *la colistine et la polymyxine B.*

Leur mode d'action bactéricide est très particulier et s'apparente à celui des détergents cationiques à base d'ammonium quaternaire. Ils agissent directement sur la membrane bactérienne en augmentant sa perméabilité ; les constituants cellulaires, particulièrement les purines et les pyrimidines, s'échappent alors dans le milieu ambiant et la cellule est rapidement lysée.

Leur utilisation répond à des critères précis :

— la polymyxine s'avère, *in vitro,* légèrement plus bactéricide, mais sa double toxicité *in vivo* pour le rein et le système nerveux en limite les indications aux traitements locaux ;

— la colistine, mieux tolérée, est active par voie parentérale sur toutes les localisations du germe. *C'est l'antibiotique majeur de l'infection pyocyanique. Une condition d'utilisation est impérative : injection de doses massives de 100.000 à 150.000 U/kg.*

Aux doses habituelles — 50.000 U/kg —, nous avons en effet pu constater, *in vitro,* que son action sur *Pseudomonas æruginosa* était purement bactériostatique.

En second lieu, la concentration au niveau de la localisation infectieuse peut être limitée par deux facteurs. La diffusion de l'antibiotique est inégale d'un tissu à l'autre ; elle apparaît ainsi toujours réduite dans les foyers infectieux bien localisés, plus faible dans l'expectoration que dans le parenchyme pulmonaire, dans les méninges saines que lors de leur inflammation. D'autre part, de même qu'elle s'adsorbe sur les membranes des bactéries avant de les lyser, une fraction importante de colistine peut, par un mécanisme analogue, se fixer sur les innombrables membranes cellulaires rencontrées dans les suppurations urinaires ou trachéo-bronchiques ; or, seule la partie libre est bactériologiquement active. On s'explique ainsi certaines discordances observées entre la sensibilité du germe *in vitro* et les résultats obtenus *in vivo.*

2° L'introduction récente, dans l'arsenal thérapeutique, d'un nouvel antibiotique du groupe des oligosaccharides, *la gentamycine* (ou garamycine), autorise quelques espoirs.

L'étude comparée de son effet bactériostatique par la méthode des disques : 44 souches sensibles (79 %), 3 souches résistantes, et de son effet bactéricide par détermination du pourcentage de survivants en milieu liquide : 78 % des souches sont de 10 à 100 % bactéricides, 8 souches seulement (14 %) donnent 10 % et plus de survivants, permet de penser que la concentration minima inhibitrice est assez proche de la concentration minima bactéricide.

Cependant, il n'est pas encore possible de savoir si cet antibiotique possède les trois inconvénients majeurs des oligosaccharides qui en limitent l'utilisation *in vivo :*

— la toxicité pour le rein et le système nerveux ;
— la fixation protéique qui peut atteindre dans le sang 30 % de la concentration sérique globale ;
— l'apparition rapide de la résistance.

* *

En définitive, « la promotion hospitalière de *Pseudomonas æruginosa* pose un double problème à la fois inquiétant et insoluble :

— Celui de voir ce petit bacille Gram négatif, dont l'habitat est extérieur à l'homme, plus sauvage que les espèces classiques, qui a acquis au cours des âges, par des mutations successives, un patrimoine génétique extraordinairement adapté aux conditions d'environnement les plus difficiles, s'adapter spécifiquement à l'homme et, de saprophyte, devenir virulent, tout en conservant sa résistance naturelle à la plupart des antibiotiques et antiseptiques...

— Celui aussi de voir s'écrouler un jour l'équilibre thérapeutique précaire qu'entretient l'apparition régulière d'antibiotiques nouveaux, qui permet de disposer toujours d'une arme de plus dans les cas difficiles...

Cette véritable mutation pathologique des germes « secondaires » dont le bacille pyocyanique est le chef de file, aujourd'hui intégrée dans le cadre étroit de l'hospitalisme, sera-t-elle l'objet d'un nouveau chapitre de la pathologie infectieuse ?

Il est bien difficile de répondre à cette question.

Vu, le Doyen :
BROUET

Vu, le Président de Thèse :
FASQUELLE

Vu et Permis d'imprimer,
le Recteur de l'Académie de Paris :
ROCHE

BIBLIOGRAPHIE

I. — Les infections à " Pseudomonas æruginosa "

• *Généralités - Epidémiologie*

Bastin (R.). — Surinfections bactériennes d'actualité. (*Actualités Médicales Flammarion,* Paris, 1960.)
Infections bactériennes d'actualité. (*Revue du Praticien,* 1962, XII, n° 17, 1857-1866.)

Barber (M.). — Hospital infection yesterday and to day. (*Journ. Clin. Path.,* 1961, **14**, 2-10.)

Bour (H.). — Infections à pyocyanique. (*Revue du Praticien,* 1962, XII, n° 17, 1853-1854.)

Bourgain (M.), Bonnel (P.H.) et Raby (C.). — Les pseudomonadaceæ, agents de souillure fréquents des produits biologiques d'origine sanguine. (*Ann. Inst. Pasteur,* 1958, **95**, 362, n° 3.)

Caldera (L.) et coll. — On the role of *Pseudomonas pyocyanea* in present day pathology. (*Riv. Anat. Path. Oncol.,* 1964, **26**, 366-372, It.)

Findland (M.), Jones (W.F.) et Barnes (M.V.). — Occurrence of serious bacterial infections since introduction of antibacterial agents. (*J.A.M.A.,* 1959, **170**, 2188-2197.)

Forkner (Cl.). — *Pseudomonas æruginosa* infections. (New York and London, Grune et Statton edit., 1960.)

Fuhner (F.). — Natural human resistance and hospitalization. (*Arch. Hyg. Bakt.,* 1964, **148**, 363-366, Ger.)

Herrault (A.) et Cohen-Solal (J.). — Les infections à bacille pyocyanique. (*Encyclopédie Médico-Chirurgicale,* « Maladies infectieuses », 1961.)

Honna (Y.). — *Pseudomonas æruginosa* and pseudomonas infections. (*Jap. Journ. Clin. Med.,* 1965, **23**, 2408-2416, Jap.)

Humair (L.). — Pyocyaneus infections. (*Schweiz. Med. Wochens.,* 1965, **95**, 944-950.)

HURST (V.) and coll. — Survival of *Pseudomonas æruginosa* in the hospital environment. (*Jour. Infect. Dis.*, 1966, **116**, 144.)

IVAN (A.) and coll. — The antibiotic era and *Pseudomonas æruginosa* infections. (*Rev. Medico-Chirurg. Iasi*, 1964, **68**, 273-280, Rum.)

MAISONNET, HAMBURGER, MOLLARET, PÉQUIGNOT, WORMS. — Responsabilité du transport des germes par les médecins, infirmières et l'entourage du malade. (*La Presse Médicale*, 1961, 2385.)

PLAOUTINE (M.). — Contribution à l'étude de la pathologie nouvelle créée par le bacille pyocyanique. (*Thèse Médecine*, Paris, mars 1965.)

ROGERS (K.B.). — Prevention of hospital cross-infection. (*Journ. Roy. Inst. Public Health*, 1964, **27**, 41-48.)

SANDUSKY (W.R.). — Pseudomonas infections, sources and cultural data in a general hospital. (*Ann. Surg.*, 1961, **153**, 996-1005.)

SELWYN (S.) and coll. — Hospital infections in perspective : the importance of the gram negative bacille. (*Scot. Med. Journ.*, 1964, **9**, 409-417.)

TARTAKOW (I.J.). — Hospital infection with *Pseudomonas pyocyanea*. (*Brit. Med. Journal*, 1965, **5429**, 252.)

VIC-DUPONT (V.). — La maladie infectieuse. (P.U.F., Coll. Que sais-je ?, 1966, 94-99.)

VIC-DUPONT, MONSALLIER (J.F.), ROCHAUT (H.) et VACHON (F.). — Etude étiologique, thérapeutique et évolutive de 26 cas d'infections sévères à bacilles Gram négatif. (*Soc. Méd. des Hôpitaux de Paris*, 1964, **114**, n° 8, 693-708.)

WILLIAMS (R.), WILLIAMS (E.D.), HAYMS (D.E.). — Cross-infection with *Pseudomonas pyocyanea*. (*Lancet*, 1960, **1**, 376-379.)

WAHBA (A.H.). — Hospital infection with pyocyanea : an investigation by a combined pyocyne and serological typing method. (*Brit. Med. Journal*, 1965, **5427**, 86-89.)

• *Méningites*

ANDRÉ-CONTRAUD (Mme). — Contribution à l'étude des méningites à bacille pyocyanique. (*Thèse Méd.*, Marseille, 1955.)

BEERENS, LAINÉ, DELANDTSCHEER, ARNOTT. — Traitement d'une méningite à bacille pyocyanique rebelle aux antibiotiques fungiques. Guérison par l'association polymyxine-sulfathiazol intra-rachidienne. (*Lille Médical*, 1956, **1**, 75-78.)

BOUDIN (G.), BARBIZET (J.), GUÉRIN (C.). — Les méningites d'inoculation à bacille pyocyanique. (*Sem. des Hôpitaux de Paris*, 1955, **1**, 26-33.)

DEVRIENDT (A.). — Traitement des méningites à bacille pyocyanique. (*Bruxelles Méd.*, 1957, **37**, n° 21, 809-820.)

JAMBON (M.). — Méningites à *Pseudomonas æruginosa*. (*Arch. Franç. Pédiat.*, 1966, **23**, 199-206.)

LEPINTRE (Y.). — Méningites à pyocyanique. (*Revue du Praticien*, 1962, XII, n° 17, 1889-1898.)

NICQUET (G.), LEKIEFRE (J.), DHALLUIN (R.), ROUSSEL (Cl.). — A propos d'un cas de méningite à pyocyanique. (*Lille Médical*, 1962, VII, n° 4, 327-330.)

PATRIKIOS (J.) et coll. — Les méningites à bacille pyocyanique après ponction lombaire et leur traitement. (*Presse Médicale*, 1964, **72**, 1297.)

PLAOUTINE (M.). — Contribution à l'étude de la pathologie nouvelle créée par le bacille pyocyanique. (*Thèse Méd.*, Paris, mars 1965, 41-47.)

ROUSSEL (Cl.). — Des méningites à pyocyanique et leur traitement. (*Thèse Médecine*, Lille, 1961.)

• *Septicémies*

BEJOT-ALBY (G.). — Contribution à l'étude des septicémies à pyocyanique d'origine urinaire. (*Thèse Méd.*, Paris, 1959.)

CATHALA (J.) et MARTIN (G.). — Septicémie à *Pseudomonas æruginosa* avec méningite et localisations ostéo-articulaires multiples. Traitement par la colimycine. (*Le Nourrisson*, 1960, n° 2, 41-48.)

CURTIN (J.A.), PETERSDORF (R.), BENNETT (I.L.). — *Pseudomonas bacteriama*. Report of 91 cases. (*Ann. Intern. Med.*, 1961, **54**, 1077-1107.)

FORKNER (C.E.), FREI (E.), EDGCOMB (J.H.), UTZ (J.P.). — *Pseudomonas septicemia* (observation on 23 cases). (*Amer. J. Med.*, 1958, **25**, 877-889.)

MAUVAIS (V.). — Contribution à l'étude de la polymyxine utilisée par voie parentérale. A propos de 3 observations de septicémies à bacille pyocyanique. (*Thèse Méd.*, Paris, 1962, n° 840, 1 à 60.)

MURPHY (G.P.) et MACDONALD (D.F.). — *Proteus, Pseudomonas* and *Achromobacter septicemia* as complications of chronic infection in anatomically predisposed urinary tracts. (*Journ. Urology*, 1961, **85**, 572.)

PLAOUTINE (M.). — Contribution à l'étude de la pathologie nouvelle créée par le bacille pyocyanique. (*Thèse Méd.*, Paris, mars 1965, 47-53.)

PRÉVOT (P.). — Les septicémies à bacille pyocyanique. (*Thèse Méd.*, Paris, 1951, n° 215.)

TERQUEM et coll. — Septicémie à bacille pyocyanique d'origine rénale. Guérison par les antibiotiques et la néphrectomie. (*Bull. et Mém. Soc. Méd. Hôpitaux Paris*, janvier 1958.)

VERLIAC (F.). — Septicémies à bacille pyocyanique. Symptômes et évolution. (*Revue du Praticien*, 1962, XII, n° 17, 1877-1889.)

• *Infections urinaires*

Aokawa (K.). — Bacilles pyocyaneus infection of the urinary tract. (*Sanfujin Jissai,* 1965, **14**, 538-542, Jap.)

Moore (B.). — An outbreak of urinary *Pseudomonas æruginosa* infection acquired during urological operations. (*The Lancet,* 1966, **11**, n° 7470, 929.)

Plaoutine (M.). — Contribution à l'étude de la pathologie nouvelle créée par le bacille pyocyanique. (*Thèse Méd.,* Paris, mars 1965, 34-36.)

Pyrah (L.N.), Goldie (W.), Parsons (F.), Rayer (F.). — Control of pseudomonas infections in an urological ward. (*The Lancet,* 1955, **269**, 314-317.)

Steg (A.), Aboulker (P.). — Infections urinaires à bacille pyocyanique. (*Revue du Praticien,* 1962, XII, n° 17, 1923-1932.)

• *Infections respiratoires*

Chassaing (Ph.). — Infections des voies respiratoires par le bacille pyocyanique chez le nourrisson. (*Thèse Méd.,* Paris, 1957.)

Fréour (P.) et coll. — Pneumopathies à *Pseudomonas æruginosa.* (*Entretiens de Bichat,* « Méd. », 1963, 335.)

— Le *Pseudomonas æruginosa* et pathologie respiratoire. (*Journ. Méd. Bordeaux et Sud-Ouest,* 1965, **142**, 1177.)

Gascard (E.), Delboy (C.), Farisse (Mme). — Infections respiratoires à bacille pyocyanique. (*Marseille Méd.,* 1963, **12**, 1242-1262.)

Humair (L.). — Suppurative pneumonia caused by *Pseudomonas æruginosa.* (*Rev. Méd. Suisse Rom.,* 1965, **85**, 681.)

Lecharpentier (J.M.). — Contribution à l'étude du traitement des suppurations thoraciques à bacilles pyocyaniques. Intérêt de la polymyxine. (*Thèse Méd.,* Paris, 1960.)

Leménager (J.), Bézard (J.), Lecharpentier (J.M.). — Infections à pyocyanique en chirurgie thoracique. (*Sem. Hôp. Paris,* 1960, n° 34-35, 2043-2048.)

Plaoutine (M.). — Contribution à l'étude de la pathologie nouvelle créée par le bacille pyocyanique. (*Thèse Méd.,* Paris, mars 1965, 36-41.)

Takigami (T.). — *Pseudomonas æruginosa* in sputa. (*Jap. J. Exp. Med.,* 1965, **35**, 371.)

Vic-Dupont, Lissac (J.), Amstutz (Ph.). — Infections à pyocyanique en réanimation respiratoire. (*Revue du Praticien,* 1962, XII, n° 17, 1909-1922.)

Vic-Dupont, Monsallier (J.F.), Amstutz (Ph.). — L'hospitalisme en réanimation respiratoire. (*Presse Médicale,* 1903, **46-47**, 2195-2198 et 2247-2249.)

• *Infections superficielles cutanéo-muqueuses, infections post-opératoires, localisations infectieuses diverses*

Ayliffe (G.A.) et coll. — Hospital infection with *Pseudomonas æruginosa* in neurasurgery. (*The Lancet,* 1965, **2**, 365-368.)

— Post operative infection with *Pseudomonas æruginosa* in an eye. (*The Lancet,* 1966, **1**, 113-117.)

Blagojevic (M.). — *Pyocyaneus infections* infections in ophtalmologie. (*Med. Glas.,* 1964, **18**, 34-38.)

Eichenberger (G.), Humair (L.). — Endocardite à bacille pyocyanique. (*Schweis. Med. Wschr.,* 1964, **94**, 1757.)

Laurence (G.). — Infection en chirurgie. (*Revue du Praticien,* 1965, XV, n° 13, 1709-1741.)

Lemoyne (J.), Feury (P.). — Otite chronique à *Pseudomonas æruginosa.* (*Ann. Oto-Laryngo.,* 1959, **76**, n° 6, 474-479.)

Mercadier, Jacquin. — Médiastinite à bacille pyocyanique. (*La Presse Médicale,* 1964, n° 31, **72**, 1895-1896.)

Piaget (F.). — Oto-mastoïdite à pyocyanique. (*Ann. Oto-Laryngo.,* 1961, **77**, 957-961.)

Stone (H.H.). — Reviews of *Pseudomonas sepsis* in thermal burns, verdoglobine determination and gentamycin therapy. (*Ann. Surg.,* 1966, **163**, 297-305.)

Stutter (V.L.) et coll. — Sources of *Pseudomonas æruginosa* infections in burns : study of wound and rectal cultures with typing phase. (*Ann. Surg.,* 1966, **163**, 597-602.)

Sussman (M.), Stevens (J.). — Pseudomonas pyocyanique wound infection. An outbreak in an orthopaedic unit. (*The Lancet,* 1960, **2**, 734-736.)

• *Infections à « Pseudomonas æruginosa » en pédiatrie*

Alison (F.). — Infections à *Pseudomonas æruginosa* chez le nouveau-né et le nourrisson. (*Actualités Pédiatriques,* 3e série, Paris, Doin et Cie édit., 1961, 321-340.)

Amiel (Cl.), Fleurguin (N.), Larroche (J.Cl.), Minkowski (A.). — A propos de 18 observations d'infections à *Pseudomonas* du nouveau-né ; considérations épidémiologiques. (*Arch. Franç. de Pédiatrie,* 1966, XXIII, n° 4, 413-434.)

Asay (L.D.), Koch (R.). — *Pseudomonas* infections in infants and children. (*New England J. Med.,* 1960, **262**, 1062.)

Chassaing (Ph.). — Infections des voies respiratoires par le bacille pyocyanique chez le nourrisson. (*Thèse Méd.,* Paris, 1957.)

Clément (L.), Milliard (L.). — Infections à bacille pyocyanique chez les enfants. (*La Presse Méd.*, 1953, **32**, 661-662.)

Constant (G.). — Pouvoir pathogène de *Pseudomonas æruginosa* chez le nourrisson et le prématuré. (*Thèse Méd.*, Bordeaux, 1957.)

Debré (R.), Mozziconacci (P.), Camis (M.). — Infection générale à bacille pyocyanique du nourrisson. (*Sem. Hôp. Paris*, 1950, **26**, n° 40, 1918-1925.)

Epstein et coll. — Infections à bacilles pyocyaniques chez les enfants. (*Ann. J. Dis. Child.*, 1953, **46**, 152.)

Hatt (J.J.), Petiot (P.). — Affections à pyocyanique chez le nouveau-né et l'enfant. (*Pédiatrie*, 1963, **18**, 975-978.)

Hoffmann (A.), Finber (G.). — Les infections à *Pseudomonas æruginosa* chez le nourrisson, associées à une ambiance très humide. (*J. Pédiat.*, 1955, **46**, 626-630.)

Koditz (H.) et coll. — Contribution to the problem of infantile enteritis caused by *Pseudomonas æruginosa* following antibiotic therapy. (*Kinderaerzth. Prax.*, 1964, **32**, 575-588.)

Milliard (G.). — Infection à bacille pyocyanique chez le nourrisson. (*Thèse Méd.*, Paris, 1952.)

Neter (E.), Weintraub. — Une étude épidémiologique sur le bacille pyocyanique chez les prématurés en présence et en l'absence d'infection. (*Journ. of Pediat.*, 1955, **46**, 280-287.)

Panero (Cl.) et coll. — Epidemiological data on *Pseudomonas æruginosa* in the centro immaturi della clinica pediatrica di Fircuze. (*Riv. Clin. Pediat.*, 1961, **68**, 303-315.)

Plaoutine (M.). — Contribution à l'étude de la pathologie nouvelle créée par le bacille pyocyanique. (*Thèse Méd.*, Paris, 1955, 54-61.)

Ragazzini (F.), Panero (Cl.). — Infectzione da *Pseudomonas æruginosa* nel neonato immaturo. (*Rev. Clin. Pediat.*, 1962, **69**, 73-107.)

Rottini (G.). — Pyocyaneus infection in the newborn and in infants. (*Minerva Pediat.*, 1959, **11**, 1193-1204.)

Rubbo (S.D.) et coll. — Source of *Pseudomonas* infection in premature infants. (*Journ. Hyg.* (Camb.), 1966, **64**, 121-128.)

Stibbon (Cl.). — A propos de 2 cas d'infection du nourrisson à bacille pyocyanique. (*Nourrisson*, janvier-février 1957.)

Struwe (F.). — Contribution to the study of *Pseudomonas æruginosa* infections in infancy. (*Helv. Paediat. Acta*, 1964, **19**, 127-136.)

VERGER (P.) et coll. — Considérations sur l'épidémie et la prévention de la diarrhée à *Escherichia coli* et à *Pseudomonas æruginosa* au centre des prématurés de Bordeaux. (*Ann. Pédiat.*, 1964, **11**, 355-366.)

WILSON, NELSON, PHILIP, BOAK. — New sources of *Pseudomonas æruginosa* in a nursery. (*J. Amer. Med. Assoc.*, 1961, **175**, 1146-1148.)

ZAMAR (R.) et coll. — *Pseudomonas æruginosa* infections in children. (*Rev. Fac. Cienc. Med. Cordoba*, 1964, **22**, 147-152.)

II. — " Pseudomonas æruginosa "

• *Bactériologie*

BOURSE (R.). — Bacille pyocyanique et antibiotique. (*Thèse Méd.*, Toulouse, 1956.)

BUTTIAUX, BEERENS, TACQUET. — Manuel des techniques bactériologiques. (*Edit. Méd. Flammarion*, 1962, 259-272.)

BUTTIAUX (R.). — *Pseudomonas* non pigmentés et achromobacter. (*Ann. Inst. Pasteur*, 1961, suppl. au n° 6, 43-58.)

CASSAGNE (H.). — Les milieux de culture et leurs applications. (*Coll. Techniques de Base*, Ed. de la Tourelle.)

CHRISTOL (D.). — Les antibiotiques et les flores de remplacement. (*Gaz. Méd. France*, 1965, **72**, 2037.)

DUMAS (J.). — Bactériologie médicale. (*Edit. Méd. Flammarion*, 469-475.)

DUVAL (J.), LAFAIX (Cl.). — Biologie du pyocyanique. (*La Revue du Praticien*, XII, n° 17, 1867-1875.)

DUVAL (J.). — Examen microscopique, milieux de culture. (*Cours C.E.S. de Bactériologie*, Chaire de microbiologie, Prof. R. Fasquelle, Paris, octobre 1966.)

ENJALBERT (L.). — Problèmes actuels de l'identification des *Pseudomonas, Achromobacter* et des bactéries analogues. (*Ann. Inst. Pasteur*, 1961, suppl. au n° 6, 10-15.)

FASQUELLE (Prof. R.). — Les problèmes actuels de l'identification des *Pseudomonas, Achromobacter* et des bactéries analogues. Prolongue. (*Ann. Inst. Pasteur*, 1961, suppl. au n° 6, 7-8.)

— Eléments de bactériologie médicale. (*Edit. Méd. Flammarion*, 71-76.)

— Microbes et équilibres biologiques. « Aux frontières de la microbiologie médicale », 2e cahier publié par R. Fasquelle. (*Edit. Méd. Flammarion*, 1961, 37-38.)

Gaby (W.L.), Logan (C.). — Pathogenioty of stains of *Pseudomonas æruginosa* for mice. (*Journ. of Bact.*, 1961, **82**, n° 1, 149-150.)

Le Minor (L.). — Le diagnostic de laboratoire des entérobactéries, 3e éd. (*Collection Technique de Base*, Ed. de la Tourelle, 1967.)

Liu Pinghui (V.). — Rôle de fractions variées de *Pseudomonas æruginosa* dans sa pathogénie. (*Journ. of Infect. Diseases*, 1961, 218-228, et 1966, 112-116.)

Luzt (A.), Schaeffer (A.), Hofferer (Mlle M.J.). — Caractères biologiques et sensibilité aux antibiotiques des bacilles du genre *Pseudomonas*. (*Ann. Inst. Pasteur*, 1958, **95**, 49.)

Olivier (H.R.). — Traité de biologie appliquée. (Lib. Maloine, 1962, II, 205-209.)

Plaoutine (M.). — Contribution à l'étude de la pathologie nouvelle créée par le bacille pyocyanique. (*Thèse Méd.*, Paris, 1965, 13-23.)

Prévot (A.R.). — Traité de systématique bactérienne. (Paris, Dunod, 1961, 43.)

Suire (A.). — Recherche sur la dissociation spontanée des *Pseudomonas æruginosa*. (*Ann. Inst. Pasteur*, 1958, **94**, 351-360.)

Topley and Wilson. — Principles of bacteriology and immunity. (London, Edward Arnold Publishers Ltd.)

Vergez. — Les *Pseudomonas*. (*Cours C.E.S. de Bactériologie*, chaire de microbiologie, Prof. R. Fasquelle, Paris, novembre 1966.)

Véron (M.). — *Pseudomonas* pigmentés. (*Ann. Inst. Pasteur*, 1961, suppl. au n° 6, 16-42.)

— Sur l'agglutination de *Pseudomonas æruginosa* : subdivision des groupes antigéniques O2 et O5. (*Ann. Inst. Pasteur*, 1961, **101**, n° 3, 456-459.)

Véron (M.), Hamon (Y.), Péron (Y.). — Contribution à l'étude des propriétés lysogènes et bactériocinogènes dans le genre *Pseudomonas*. (*Ann. Inst. Pasteur*, 1961, **101**, n° 5, 738-753.)

• *Sensibilité aux antibiotiques - Traitement*

Bosko, Postic et Maxwell Finland. — *In vitro* susceptibility of recetly isolated strains of *Pseudomonas æruginosa* to ten antibiotics. (*Amer. Journ. Med. Sc.*, 1961, **242**, 551.)

Brizuela (W.I.) et coll. — *Pseudomonas æruginosa* study of its antibiotics sensitivity. (*Rev. Fac. Cienc. Med. Cordoba*, 1964, **22**, 139-146.)

Bulger (R.J.) et coll. — Laboratory and clinical studies of gentamycin, a new broad spectrum antibiotic. (*Ann. Intern. Med.*, 1963, **59**, 593-604.)

Capris (J.D.) et coll. — Sensitivity *in vitro* of *Pseudomonas æruginosa* to sulfas and antibiotics. (*Sem. Med.*, Buenos-Aires, 1963, **123**, 385-394.)

CARAFA (V.) et coll. — Contributo allo studio sensibilita' del *Bacterium pyocianeum* a vari antibiotici. (*Gaz. Med. Ital.*, 1961, **120**, 321.)

CHABBERT (Y.), COURTIEU (A.L.). — La sensibilité aux antibiotiques des *Pseudomonas, Achromobacter* et *B 5 W Bacterium anitratum*. (*Ann. Inst. Pasteur*, 1961, suppl. au n° 6, 100-113.)

CHABBERT (Y.). — Courbe d'effets bactériostatiques des associations de la colistine avec les tétracyclines et la kanamycine. (*Ann. Inst. Pasteur*, 1961, suppl. au n° 4, **100**, 53-58.)

— Evolution des populations bactériennes résistantes sous l'influence des antibiotiques. (*Ann. Inst. Pasteur*, 1959, **97**, n° 1, 41-52.)

— L'antibiogramme. (*Coll. Techniques de Base*, Ed. de la Tourelle, 1963.)

— La bactériologie des antibiotiques. (*Cours C.E.S. de Bactériologie*, chaire de microbiologie, Prof. R. Fasquelle, Paris, décembre 1966.)

COCCHI (P.) et coll. — *In vitro* sensitivity of *Pseudomonas æruginosa* to gentamycin. (*Minerva Pediat.*, 1965, **17**, 866-868.)

DELINOTTE et coll. — Le traitement systématique des infections urinaires à pyocyanique par la colistine. (*Gaz. Méd. France*, 1965, **72**, 1035-1040.)

DUVAL (J.). — Notions pratiques sur l'étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. (*Gaz. Méd. France*, 1965, 2065-2090.)

EICKHOFF et coll. — Polymyxin B and colistin : *in vitro*, activity against *Pseudomonas æruginosa*. (*Amer. Journ. Med. Sc.*, 1965, **249**, 172-174.)

FASQUELLE (Prof. R.). — L'évolution de l'aspect des infections sous l'influence des antibiotiques. (*Ann. Inst. Pasteur*, 1959, **97**, n° 1, 41-52.)

— Les trois aspects de la lutte contre les germes infectieux. (*Coll. Aspects de la Biologie*, 1955.)

FOISSIN (B.) et YANA (M.). — Essais thérapeutiques de la polymyxine B dans les affections auriculaires à bacille pyocyanique. (*La Clinique*, 1965, **60**, 150.)

GAILLARD (L.), DELPHIN (D.), CORNU (P.). — Intérêt de la colimycine dans le traitement de certaines infections à *Pseudomonas æruginosa*. (*La Presse Méd.*, 1959, **67**, n° 18, 750.)

GREEN (L.J.) et HALL. — Treatment of serious *Pseudomonas* infections with colistin, methate, sodium. (*Antimicrob. Agent Chemother.*, 1961, 420-423.)

JEDLICKOWA (Z.) et coll. — Sensitivity of the genus *Pseudomonas* to antibiotics. (*Journ. Hyg. Epidem.*, Praha, 1965, **9**, 11.)

— A study of the effect of gentamycin on *Pseudomonas æruginosa*. (*Journ. Hyg. Epidem.*, Praha, 1966, **10**, 178-179.)

LAPRESLE (C.). — Prophylaxie et traitement des infections à pyocyanique. (*Revue du Praticien*, 1962, XII, n° 17.)

MARTIN (R.), SUREAU (P.), CHABBERT (Y.), MARTIN (L.), HUTINEL (B.). — La colimycine. (*Rev. Méd. Fr.*, 1959, **40**, n° 2.)

MCMILLAN et coll. — *Pseudomonas pyocyanea* infection treated colistin, methane, sulfonate. (*The Lancet*, 1962, **11**, 737-739.)

MOHAN (R.) et PIANOTTI (R.). — Studies on the mode of action of colistin, sulfate on *Pseudomonas æruginosa*. (*Bacter. Proc.*, 1960, 99.)

MOLLARET, WARLUZEL. — Echec des antibiotiques *in vitro*, action nette des sulfamides sur le bacille pyocyanique. (*Sem. Hôp. Paris*, 1954, **42**, 2697.)

OIFFER (R.L.). — Un chimiothérapique actif vis-à-vis des bacilles Gram négatif, la polymyxine. (*Thèse Méd.*, Paris, juin 1949.)

PANERO (C.). — Sensitivity of *Pseudomonas æruginosa* to antibiotics. (*Rev. Clin. Pediat.*, 1965, **76**, 43-50.)

PLAOUTINE (M.). — Contribution à l'étude de la pathologie nouvelle créée par le bacille pyocyanique. (*Thèse Méd.*, Paris, mars 1965, 71-79.)

PORTOLES (A.) et coll. — Culture characteristics and the antibiogram of strains of *Pseudomonas æruginosa* isolated from pathological products. (*Rev. Clin. Esp.*, 1964, **93**, 373-377.)

QUINCKE (G.). — On the determination of the resistance of *Pseudomonas æruginosa* strains to colistin. (*Deutsch. Med. Wschr.*, 1964, **89**, 2044-2047.)

RAAM (R.), HOHAN et coll. — Effects of colistin on the metabolism of *Pseudomonas æruginosa*. (*Antimicrobial Agents and Chemoth.*, 1962, **801**.)

ROBERTS (C.E.) et KIRBK (W.M.). — Colistin in the treatment of hospitalized paticuts with *Pseudomonas* infections. (*Antimicrobial Agents Am.*, 1960, 409-423.)

SABATH (L.) et coll. — Synergistic action of penicillin and cephalosporins against *Pseudomonas pyocyanea*. (*Nature*, 1964, **204**, 1066-1069.)

TAKIGAMI (T.) et coll. — Susceptibility of *Pseudomonas æruginosa* to antibiotics, especially to colistin. (*Jap. Journ. Exp. Med.*, 1963, **33**, 385-394.)

WAISBREN (B.A.), LEPLEY (D.). — Antibiotics and gamma globulin in *Pseudomonas* infections. (*Arch. Int. Med.*, 1962, **109**, 712-716.)

TABLE DES MATIÈRES

Introduction 11

Chapitre I. — Pathologie humaine 14

— *Les conditions étiologiques de l'infection à « Pseudomonas æruginosa »* 18

— *Les infections à pyocyanique* 20

Chapitre II. — Pseudomonas æruginosa 36

— *Etude bactériologique de « Pseudomonas æruginosa »* 37

— *Etude bactériologique de 56 souches de « Pseudomonas æruginosa ».* 53

Chapitre III. — Traitement 63

— *Prophylaxie des infections à « Pseudomonas æruginosa »* 63

— *Traitement et antibiotiques* 65

Conclusion 75

Bibliographie 79

IMPRIMERIE
R. FOULON & Cie
29, Rue Deparcieux, 29
PARIS — 1967